DAS HISTOCHEMISCHE VERHALTEN EINIGER DARSTELLBARER ENZYME IM HODEN VON PRAEPUBERALEN UND POSTPUBERALEN HUNDEN UNTER DEN BEDINGUNGEN DES EXPERIMENTELLEN UNILATERALEN KRYPTORCHISMUS

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universität
zu Bonn

vorgelegt von
CHRISTEL SAUER
aus Saarburg

Bonn 1976

DAS HISTOCHEMISCHE VERHALTEN EINIGER DARSTELLBARER ENZYME IM HODEN VON PRAEPUBERALEN UND POSTPUBERALEN HUNDEN UNTER DEN BEDINGUNGEN DES EXPERIMENTELLEN UNILATERALEN KRYPTORCHISMUS

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universität
zu Bonn

vorgelegt von
CHRISTEL SAUER
aus Saarburg

Bonn 1976

Angefertigt mit Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Priv. Doz. Dr. med. L. WEISSBACH

2. Gutachter: Prof. Dr. med. K. FLEISCHHAUER

Aus der Urologischen Klinik der Universität Bonn

Direktor: Prof. Dr. med. W. VAHLENSIECK

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Druck: R. Schwarzbold, Witterschlick/Bonn

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
A.	Klinische Bedeutung des Maldescensus testis	1
B.	Aus der Literatur bekannte enzymhistochemische Befunde (Lokalisation und Aktivität) im praepuberalen und postpuberalen Hoden einiger Spezies	3
1.	Hydrolasen	4
	Alkalische Phosphatase	4
	Saure Phosphatase	5
	Unspezifische Esterasen	5
2.	Oxidoreductasen	6
	$NADH_2$-Tetrazolium-Reductase	6
	Succinat-Dehydrogenase	7
	Lactat-Dehydrogenase	8
	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase	10
	Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase	11

Seite

II. DURCHFÜHRUNG UND ERGEBNISSE DER EIGENEN EXPERIMENTELLEN UNTERSUCHUNGEN 13

A. Material und Methodik 13

1. Versuchstiere 13

a) Gruppe I - nichtgeschlechtsreife Tiere 13

b) Gruppe II - geschlechtsreife Tiere 14

2. Versuchsanordnung 14

a) Gruppe I - praepuberale Tiere 14

b) Gruppe II - postpuberale Tiere 14

3. Operative Herstellung eines unilateralen Kryptorchismus beim Hund 15

a) Narkose 15

b) Operationstechnik 15

Seite

4. Enzymhistochemische Methoden 16

a) Vorbehandlung des Gewebes 16

b) Methoden und ihre Prinzipien zur histochemischen Enzymdarstellung 17

α) Hydrolasen 17

- Alkalische Phosphatase
Saure Phosphatase
Unspezifische Esterasen -

ß) Oxidoreductasen 23

1. Flavinnucleotid-gebundene anaerobe Dehydrogenasen 24

- $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase
Succinat-Dehydrogenase -

2. Pyridinnucleotid-gebundene anaerobe Dehydrogenasen 27

- Lactat-Dehydrogenase
Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase -

Seite

B. Ergebnisse der enzymhistochemischen Untersuchungen zur Wirkung des experimentellen unilateralen Kryptorchismus am Hundehoden 33

1. Praepuberale Tiere 34

2. Postpuberale Tiere 37

C. Abbildungen zu den Ergebnissen enzymhistochemischer Untersuchungen 40

III. DISKUSSION 58

IV. ZUSAMMENFASSUNG 67

V. LITERATURVERZEICHNIS 69

I. EINLEITUNG

A. Klinische Bedeutung des Maldescensus testis

Unter der Bezeichnung "Maldescensus testis" werden alle Formen der Lageanomalien des Hodens außerhalb des Scrotums zusammengefaßt. Der Hodendescensus beginnt im 7. Embryonalmonat (BAUER u. HASSE 1970, WALZ 1971) und ist normalerweise mit der Geburt abgeschlossen (WALZ 1971). Alle zu Beginn des 2. Lebensjahres nicht descendierten Hoden fallen unter den Begriff des "Pathologischen Hodenhochstandes" , der bei Normalgeburten mit einer Häufigkeit von 1 - 10 % (BECKER u. GASTEYER 1969, SCORER 1956, LANGE 1966, FRICK 1965) vorkommt. Insgesamt gibt es 4 Erscheinungsformen des gestörten Hodendescensus:

1. Pendelhoden
2. Gleithoden
3. Hodenretention
4. Hodenektopie

Während bisher über die Ursachen der Descensusstörung nur Mutmaßungen angestellt wurden (NELSON 1953, BIERICH 1967, ANKERHOLD u. GRESSMANN 1969, STÄDTLER u. HARTMANN 1972) sind dem Kliniker die Komplikationen bzw. die Auswirkungen einer Hodendystopie wohl bekannt. So zeichnen sich Hoden in dystoper Lage durch eine ungewöhnliche Beweglichkeit aus. Bei ihnen kommt es daher häufiger zu Tor-

sionen als bei Hoden in orthotoper Lage (VAHLENSIECK 1959, DITTRICH u. SIGEL 1971). Auch die Tumorerwartung beim Maldescensus testis ist höher als bei normal descendierten Hoden (SWOBODA 1970, JOHNSON 1972). Nach HÖSLI (1971) entwickeln sich 5,9 - 14,3 % aller Malignome in dystopen Hoden. Da ein leeres Scrotalfach schon im Kindesalter Minderwertigkeitsgefühle auslösen kann, strebt die Orchidopexie neben einem guten funktionellen auch ein befriedigendes kosmetisches Ergebnis an (DAVEY u. HAMILTON 1972). Obwohl die schwerwiegendste Gefahr einer Hodendystopie das erhöhte Tumorrisiko ist, kommt jedoch die größte klinische Bedeutung beim Maldescensus testis den weitaus häufiger auftretenden Fertilitätsstörungen zu. So untersuchte NIERMANN (1972) 558 verheiratete Männer mit einer behandelten bzw. unbehandelten Hodenretention. In 53,2 % der Fälle bestand eine Azoospermie, 24,2 % der Patienten hatten eine hochgradige Asthenozoospermie und 15,1 % eine Oligozoospermie. In über 75 % der Fälle lag also Zeugungsunfähigkeit, bzw. eine hochgradige Einschränkung der Fertilität vor.

In diesem Zusammenhang sind die Beobachtungen von SHIRAI et al. (1966) interessant, die die Ursache für eine Sterilität bei unilateralem Kryptorchismus in degenerativen Veränderungen des kryptorchen und des scrotalen Hodens sahen. Sie fanden biochemisch auch im orthotopen Hoden eine Abnahme der Succinat-Dehydrogenase- und Lactat-Dehydrogenase-Aktivität.

Da in letzter Zeit immer häufiger die Frühbehandlung des Kryptorchismus gefordert wird (HECKER 1971, HECKER 1972, HECKER et al. 1972, HÖSLI 1971), liegt es nahe -in

Kenntnis der Untersuchungen von SHIRAI et al. (1966)- nach experimenteller Verlagerung eines Hodens in die Bauchhöhle, den Funktionsstoffwechsel im orthotopen und im dystopen Hoden anhand histochemischer Enzymdarstellungen zu beurteilen.

B. Aus der Literatur bekannte enzymhistochemische Befunde (Lokalisation und Aktivität) im praepuberalen und postpuberalen Hoden einiger Spezies

Bisher wurden bei geschlechtsreifen Tieren verschiedener Spezies zahlreiche enzymhistochemische Untersuchungen des Hodens unter normalen und experimentellen Bedingungen durchgeführt. In der Literatur finden sich jedoch kaum Angaben über das Enzymmuster des praepuberalen Hodens.

Das Enzymverhalten im Hundehoden haben lediglich NACHLAS u. SELIGMAN (1949), die die Esterasen-Aktivität dargestellt haben und MAIER (1965), der die Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase-Aktivität beurteilte, überprüft. Im folgenden sollen deshalb die bei anderen Spezies bekannten Lokalisationen und Aktivitäten der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Enzyme dargelegt werden.

1. Hydrolasen

Alkalische Phosphatase

= Unspezifische Phosphomonoesterase I, die im alkalischen Milieu (pH-Optimum 9) die Hydrolyse der Phosphomonoester katalysiert (PEARSE 1968).

Bei der nichtgeschlechtsreifen Ratte beobachtete KÖPP (1967) eine starke alkalische Phosphatase-Aktivität in der basalen Tubulusmembran, im interstitiellen Bindegewebe und in den Leydig-Zellen des Hodengewebes. Nach BERN (1949), DEMPSEY et al. (1949) und BAUST et al. (1967) kommt im Hoden geschlechtsreifer Ratten alkalische Phosphatase-Aktivität im Zytoplasma der sich entwickelnden Spermazellen, in der Tunica propria der Tubuli und im gesamten Interstitium vor. BREITENECKER et al. (1972) wiesen dagegen nur in der Basalmembran der Tubuli und in den interstitiellen Gefäßwänden Aktivität nach. Während BERN (1949) im Meerschweinchenhoden das gleiche Enzymbild wie im Hoden von Ratte und Maus fand, stellten BAUST et al. (1967) im Meerschweinchenhoden eine sehr viel stärkere Aktivität in den Leydig-Zellen und eine -mit Ausnahme der Gefäßwände- sehr viel schwächere Intensität des übrigen Interstitiums fest. Im Bereich des Keimepithels waren nur die zentralen Schichten mäßig aktiv.

Saure Phosphatase

= Unspezifische Phosphomonoesterase II, III und IV, die im sauren Milieu (pH-Optimum 4) die Hydrolyse der Phosphomonoesterase katalysiert (PEARSE 1968).

Die Verteilung der sauren Phosphatase im Hodengewebe ist in der Literatur noch relativ wenig beschrieben worden. KÖPP (1967) fand im Tubulusepithel des nichtgeschlechtsreifen Rattenhodens fein verteilten granulären Farbstoff, der die Kerne ausgespart ließ. Die Aktivität der Leydig-Zell-Komplexe nahm kontinuierlich bis zur Pubertät zu. NIEMI u. KORMANO (1965) und POSALAKY et al. (1968) beobachteten im geschlechtsreifen Rattenhoden eine "zyklische" Aktivität der sauren Phosphatase im Zytoplasma der Sertoli-Zellen, in dem die Köpfe der Spermatiden eingebettet lagen. BAUST et al. (1967) wiesen für die Ratte, die Maus und das Meerschweinchen eine schwache Aktivität im Keimepithel der Hoden nach. Nach diesen Autoren bestand jedoch für die Leydig-Zell-Komplexe eine spezifische Differenz: während die Leydig-Zellen der Maus eine sehr starke Aktivität zeigten, waren in diesem Bereich bei der Ratte und dem Meerschweinchen nur eine schwache Intensität zu verzeichnen.

Unspezifische Esterasen

= Enzyme, die die Hydrolyse von Fettsäureestern katalytisch beschleunigen. Sie stellen ein Enzymgemisch dar.

NIEMI et al. (1962) verwendeten zum Nachweis der unspezifischen Esterasen-Aktivität im Rattenhoden 8 Substrate, unter anderem α-Naphthylacetat. Mit den gleichen Substraten führten sie eine elektrophoretische Trennung der Enzymproteine durch und wiesen damit 8 verschiedene Esterase-Typen nach.

Die unspezifische Esterasen-Aktivität im praepuberalen Rattenhoden sahen sowohl HUGGINS u. MOULTON (1948) als auch KÖPP (1967) mit einem stetigen Anstieg bis zur Pubertät verbunden. Das Tubulusepithel war stark aktiv, die Leydig-Zellen mäßig positiv. Von übereinstimmenden Befunden konnten NACHLAS u. SELIGMAN (1949), CHESSICK (1953), NIEMI et al. (1962), NIEMI u. KORMANO (1965), NIEMI et al. (1966) und BAUST et al. (1967) im geschlechtsreifen Rattenhoden berichten. Sie fanden im Tubulusapparat stark aktive Sertoli-Zellen und im Interstitium intensiv gefärbte Leydig-Zell-Komplexe. NACHLAS u. SELIGMAN (1949) beschrieben im Hundehoden eine stark positive Reaktion der unspezifischen Esterasen im Keimepithel, die hauptsächlich an die Spermatogonien gebunden war. Im Interstitium hoben sich nur einzelne Leydig-Zellen aktiv hervor.

2. Oxidoreductasen (Dehydrogenasen)

$NADH_2$-Tetrazolium-Reductase

= in vivo das Flavin-Enzym: $NADH_2$- Cytochrom c - Reductase. Beim histochemischen Enzym-Nachweis dient ein Te-

trazoliumsalz (TNBT) als Wasserstoff-Acceptor.

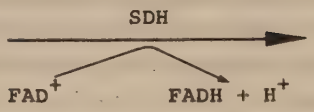
$NADH_2$- Cytochrom c - Reductase reoxidiert das zuvor durch eine Nucleotid-gebundene anaerobe Dehydrogenase reduzierte Pyridinnucleotid und überträgt den Wasserstoff auf das Cytochrom-System, wo er mit Hilfe von Cytochrom-Oxidase zu Wasser oxidiert wird (RUDOLPH 1960).

KÖPP (1967) bemerkte im praepuberalen Rattenhoden in den zentralen Anteilen des Tubulusepithels starke $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase-Aktivität, während die Leydig-Zellen nur eine schwache Reaktion aufwiesen. Im geschlechtsreifen Rattenhoden fanden NIEMI u. IKONEN (1962) eine hohe Enzym-Aktivität in den Leydig-Zellen. GOSLAR et al. (1966) bestätigten diesen Befund auch für die Ratte, die Maus und das Meerschweinchen. Spezies-Unterschiede beobachteten diese Autoren jedoch im Tubulusepithel: Ratte und Maus zeigten schwache, das Meerschweinchen starke Aktivität der $NADH_2$- Tetrazolium-Reductase.

Succinat-Dehydrogenase (SDH)

Die SDH ist ein Flavoproteid, das mit der Atmungskette besonders eng verbunden ist. Sie dehydriert Succinat zu Fumarat; dabei geht ihre prosthetische Gruppe (FAD) in die hydrierte Form über und gibt unter physiologischen Bedingungen den Wasserstoff an Ubichinon oder Cytochrom b

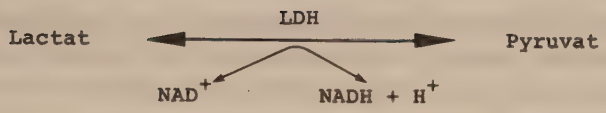
weiter (RAPOPORT 1966).



Über die Lokalisation der Succinat-Dehydrogenase im praepuberalen Hoden liegen in der Literatur keine Angaben vor. Während AMBRADKAR et al. (1964) und GOSLAR et al. (1966) den Leydig-Zell-Komplexen des postpuberalen Rattenhodens eine hohe SDH-Aktivität zuschrieben, beobachteten TURPEINEN et al. (1962) eine starke Enzym-Aktivität in den Sertoli-Zellen und GOSLAR et al. (1966) eine schwache Aktivität im Keimepithel, die basal mehr als apikal hervortrat. GOSLAR et al. (1966) sahen im Mäuse- und Meerschweinchenhoden ein ähnliches SDH-Aktivitätsverhalten wie im Rattenhoden.

Lactat-Dehydrogenase (LDH)

LDH katalysiert reversibel die Umwandlung von Lactat zu Pyruvat. Dabei wirkt NAD als Coenzym.



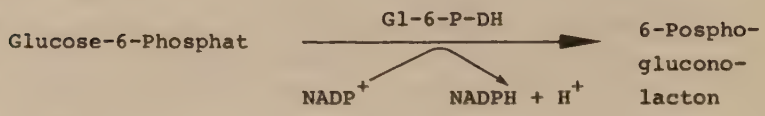
BLANCO u. ZINKHAM (1963) beschrieben erstmalig das Auftreten eines elektrophoretisch abtrennbaren LDH-Isoenzyms, das für den Hoden spezifisch ist: LDH_x. Sie beobachteten, daß LDH_x ausschließlich in den Tubuli des postpuberalen menschlichen Hodens vorkam und folgerten daraus, daß eine enge Verbindung von LDH_x zur spermatogenetischen Aktivität bestehen müsse. Während sich die lumennahen Keimepithelzellen bei der Färbung mit Hämatoxylin-Eosin (H.E.) als Spermatocyten I. und II. Ordnung differenzieren ließen, färbten sich die basalen Zellen der Tubuli und das Interstitium nicht (BLACKSHAW u. ELKINGTON 1967).

Im nichtgeschlechtsreifen Rattenhoden fand KÖPP (1967) im basalen Tubulusepithel stärkere Farbstoffablagerungen als apikal. Die Leydig-Zell-Komplexe zeigten bis zur Pubertät eine ständige Zunahme der Lactat-Dehydrogenase-Aktivität. GRIGORIADIS et al. (1969) bestätigten diesen Befund auch für den Meerschweinchenhoden. Die geschlechtsreifen Rattenhoden wiesen nach LEVY et al. (1959) und AMBRADKAR et al. (1964) sowohl im Tubulusepithel als auch in den Leydig-Zell-Komplexen eine hohe LDH-Aktivität auf. Während NIEMI u. IKONEN (1962) und GOSLAR et al. (1966) in Bezug auf die Leydig-Zell-Komplexe zu den gleichen Ergebnissen kamen, konnten sie -ebenso wie ITO (1966)- im Samenepithel dieser Spezies nur eine

schwache Enzym-Aktivität nachweisen. Der Meerschweinchenhoden zeigte im Tubulusepithel und in den Leydig-Zellen eine starke Farbstoffbeladung (GOSLAR et al. 1966).

Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase

Dieses NADP-abhängige Enzym katalysiert die Reaktion:

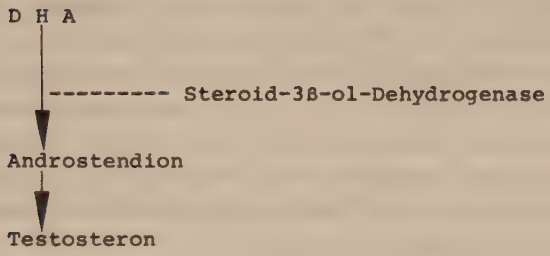


Das gebildete NADPH ist im Hoden für die Steroid-Synthese erforderlich.

Für den praepuberalen Meerschweinchenhoden beschrieben GRIGORIADIS et al. (1969) eine sehr schwache Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität des Tubulusepithels und eine starke Aktivität der Leydig-Zell-Komplexe. GOSLAR et al. (1966) fanden im geschlechtsreifen Hoden von Ratte und Maus eine schwache Enzym-Aktivität im Keimepithel und mäßige Aktivität in den Leydig-Zell-Komplexen. Demgegenüber konnte beim Meerschweinchen im Bereich der Leydig-Zell-Komplexe eine sehr hohe Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität nachgewiesen werden (GOSLAR et al. 1966).

Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase

Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase oxidiert die 3ß-Hydroxy-Gruppe von DHA (Dehydroepiandrosteron) bei Anwesenheit von NAD und ist das Schlüsselenzym für die Steroid-Biosynthese (BAILLIE et al. 1966).



WATTENBERG (1958) stellte das Enzym erstmals histochemisch durch Kopplungs-Reaktion über die NAD-Diaphorase mit Reduktion von Tetrazolium-Salz dar. Als Substrat benutzte er DHA oder Pregnenolon.

Auf der Basis der Untersuchungen von BAILLIE u. GRIFFITHS (1964) muß die Existenz von mehr als einem 3ß-Hydroxy-Steroide dehydrogenierendem Enzym postuliert werden. Jedes Enzym besitzt Substratspezifität: mit 17 α-Hydroxy-Pregnenolon-Sulfat, Pregnenolon-Sulfat oder DHA als Substrat konnten BAILLIE u. GRIFFITHS (1964) in den Leydig-Zellen des Mäusehodens Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase-Aktivität in allen Altersstufen nachweisen. Die Aktivität

stieg bis zum Ende der 7. Woche des postnatalen Lebens an; danach hielt sich ein relativ konstant hoher Wert. KÖPP (1967) sah den gleichen kontinuierlichen Anstieg der Enzym-Aktivität im praepuberalen Rattenhoden. Die Tubuli waren frei von Aktivität. Beim Meerschweinchen waren die Verhältnisse anders: GRIGORIADIS et al. (1969) fanden dort das Tubulusepithel mittelmäßig aktiv. Die Aktivitätsverteilung und -stärke der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase im geschlechtsreifen Hoden der Ratte (LEVY et al. 1959, NIEMI u. IKONEN 1962, MAIER 1965, HAMACHER 1968, BREITENECKER et al. 1972) und der Maus (BAILLIE u. GRIFFITHS 1964, HAMACHER 1968) ähnelten derjenigen im Hoden der praepuberalen Spezies. Im Meerschweinchenhoden stellte sich die Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase schwach im Keimepithel dar (HAMACHER 1968). MAIER (1965) beobachtete in den Leydig-Zellen des geschlechtsreifen Hundehodens nur eine schwache Aktivität.

II. DURCHFÜHRUNG UND ERGEBNISSE DER EIGENEN EXPERIMENTELLEN UNTERSUCHUNGEN

Gegenstand der eigenen Untersuchungen war das Verhalten einiger histochemisch darstellbarer Enzyme im Hoden von prae- und postpuberalen Hunden unter den Bedingungen des experimentellen unilateralen Kryptorchismus. Die jeweilige Lokalisation der Enzyme wurde festgestellt und deren Aktivität sowohl im dystopen als auch im orthotopen Hoden semiquantitativ beurteilt.

A. Material und Methodik

1. Versuchstiere

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 20 reinrassigen männlichen Beagle-Hunden durchgeführt. Davon ausgehend, daß der Hund sich mit 6 - 9 Monaten im geschlechtsreifen Alter befindet (HERRE 1972), unterteilen sich die Tiere in 2 Gruppen:

a) Gruppe I: 10 junge nichtgeschlechtsreife Hunde im Alter von 3 Monaten, Durchschnittsgewicht 5,2 kg.

b) Gruppe II: 10 ausgewachsene geschlechtsreife Hunde im Alter von 2 Jahren, Durchschnittsgewicht 16,3 kg.

Die Beagles wurden im Hinblick auf Unterbringung, Auslauf, Fütterung und Pflege unter gleichen Bedingungen gehalten.

2. Versuchsanordnung

In den beiden o. a. Gruppen standen jeweils 8 Beagles im Versuch; 2 Tiere dienten zur Kontrolle.

a) Gruppe I - praepuberale Tiere: Bei 8 Tieren erfolgte die Verlagerung des linken Hodens mittels Klebefixierung mit Histoacryl^{R} an der lateralen Bauchwand. Der Eingriff wurde in Nembutal-Allgemeinanästhesie durchgeführt. Bei den 2 Kontrolltieren wurde keine Hodenverlagerung vorgenommen. Nach 3 Monaten wurde die Kastration aller Tiere durchgeführt.

b) Gruppe II - postpuberale Tiere: Bei 8 Tieren fand die Herstellung des experimentellen unilateralen Kryptorchismus wie unter

Gruppe I angegeben statt. 2 Tiere dienten zur Kontrolle. Die Kastration aller Tiere wurde nach 3 Monaten vorgenommen.

3. Operative Herstellung eines unilateralen Kryptorchismus beim Hund

a) Narkose

15 min. vor der Narkose erhielten die Tiere als Praemedikation COMBELEN^{R} (Bayer Leverkusen), das in einer Dosierung von 0,25 - 0,5 mg pro kg Körpergewicht i.m. verabreicht wurde. Eine ausreichende Allgemeinanästhesie wurde durch i.v.-Injektion von NEMBUTAL^{R} (Pentobarbital Natrium; Abbott S.A.; 25 mg pro kg Körpergewicht) erzielt. Die Narkosetiefe kontrollierten wir durch Beobachtung des Reflexverhaltens. Hodenverlagerungen und Kastrationen wurden mit Hilfe des beschriebenen Anästhesie-Verfahrens vorgenommen.

b) Operationstechnik

Nach pararectalem Hautschnitt und Spaltung der Externusaponeurose wurde der Funiculus spermaticus im Leistenkanal aufgesucht und unter stumpfer Lösung von seiner Unterlage nach distal verfolgt. Der Hoden wurde

aus dem Scrotalfach geschält und mit dem Samenstrang nach cranial gezogen. Nach Durchtrennung des M. obliquus internus wurde der Samenstrang bis an das Peritoneum heran präpariert, das Peritoneum und die Fascia spermatica externa eröffnet und der M. cremaster durchtrennt. Nach Trennung der Vasa testicularia vom Ductus deferens wurden die Elemente des Samenstranges in die Bauchhöhle verlagert und der Hoden an der lateralen Bauchwand mit HISTOACRYL^{R} (Fa. Braun Melsungen) fixiert. Bei der Verlagerung des Hodens wurde sorgfältig jede Beinträchtigung der physiologischen Blutversorgung des Hodens, insbesondere jede Torsion des Funiculus spermaticus vermieden.

Verschluß des Peritoneums mit fortlaufender Cat-Naht, Naht des M. obliquus internus und schichtweiser Wundverschluß beendeten den Eingriff.

4. Enzymhistochemische Methoden

a) Vorbehandlung des Gewebes

Zur histochemischen Enzymdarstellung wurden ca. 0,5 cm^3 große Gewebsblöcke aus den frisch entnommenen Hoden herausgeschnitten und sofort in CO_2 - Schnee (ca. - 72^{o} C) tiefgefroren. Anschließend erfolgte die Herstellung von 20 /um dicken nativen Gefrierschnitten mit dem Gefriermikrotom (Linde-Kryostat der Fa. Dittes,

Heidelberg) bei einer Schneidetemperatur von - 18° C bis - 20° C.

Unmittelbar vor der Inkubation wurden die Schnitte einer Vorfixierung in 10 %igem gepufferten Formalin bei 4° C (50 ml Formaldehyd, 450 ml Aqua dest., 15 g Natriumacetat · 3 H_2O; der pH-Wert wurde mit 1 n Essigsäure auf pH 7,4 eingestellt) unterzogen (GOSLAR u. BOCK 1971). Die Fixierungszeit betrug beim Nachweis von Hydrolasen 5 min., beim Nachweis von Oxidoreductasen 1 min.. LOJDA (1965) und REISS (1967) empfehlen diese kurze Vorfixierung auch für die Dehydrogenasen, um das Enzym am Auswandern aus seinem physiologischen Wirkort zu hindern. Dieses Verfahren beeinträchtigt die Enzym-Aktivität nicht oder nur unwesentlich, läßt jedoch die Schnitte besser auf dem Objektträger haften (BOCK 1973).

b) Methoden zur histochemischen Enzymdarstellung und ihre Prinzipien

α) Hydrolasen

1. Phosphatasen

Zur histochemischen Darstellung der alkalischen und sauren Phosphatase diente das Prinzip der Metallsalz-

Methode nach GOMORI (1939, 1941, 1952): das durch die enzymatische Wirkung freigesetzte anorganische Phosphat wird direkt am Enzymort als Bleiphosphat gefällt. Dieses wird mittels einer Sekundärreaktion (Behandlung des Gewebeschnittes mit 3 %iger Ammonium-Sulfid-Lösung) als Blei-Sulfid sichtbar gemacht.

Blei-Ionen bilden mit den Phosphorsäure-Estern, die üblicherweise zum Nachweis von Phosphatase benutzt werden, sehr schwer lösliche Komplexe. Es ist daher erforderlich, das Blei im Inkubationsmedium an einen geeigneten Komplexbildner zu binden. Dieser muß so beschaffen sein, daß er einerseits die Bildung eines Blei-Substrat-Komplexes verhindert, andererseits die Fällung des Bleis durch enzymatisch freigesetzte Phosphat-Ionen nicht beeinträchtigt (v. DEIMLING 1964). Bleikomplexbildner, die diese Eigenschaften besitzen, sind z.B. Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (WACHSTEIN u. MEISEL 1956) und Glykokoll (KEEFER u. REIBER 1941, BODANSKY 1946, PADYKULA u. HERMAN 1955).

Alkalische Phosphatase

(direktes Bleiverfahren nach GOMORI 1939, 1941; modifiziert nach v. DEIMLING 1964)

Die Präparate wurden 60 min. bei Raumtemperatur in folgendem Medium inkubiert:

49	ml	Aqua dest.
1	ml	1 n Essigsäure
50	mg	Bleinitrat (Abfang-Ion für Phosphat)
100	mg	Magnesiumacetat (Aktivator)
1	g	Glykokoll (Bleikomplexbildner)
250	mg	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (Bleikomplexbildner, gleichzeitig Puffer)
30	mg	Natrium-ß-Glycerophosphat (Substrat)

pH 8,2

Nach Behandlung der Präparate mit 3 %iger Ammonium-Sulfid-Lösung (30 sec.) fällt an Orten alkalischer Phosphatase-Aktivität Blei-Sulfid (braun-schwarzer Niederschlag) aus.

Saure Phosphatase

(direktes Bleiverfahren nach GOMORI 1952; modifiziert nach BARKA u. ANDERSON 1962)

Die Präparate wurden 4 Stunden bei Raumtemperatur in folgendem Medium inkubiert:

49	ml	Aqua dest.	
1	ml	1 n Essigsäure	
50	mg	Bleinitrat	(Abfang-Ion für Phosphat)
100	mg	Magnesiumacetat	(Aktivator)
1	g	Glykokoll	(Bleikomplexbildner)
100	mg	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan	(Bleikomplexbildner, gleichzeitig Puffer)
100	mg	Natrium-ß-Glycerophosphat	(Substrat)

pH 6,0

Nach Behandlung der Präparate mit 3 %iger Ammonium-Sulfid-Lösung (30 sec.) fällt an Orten saurer Phosphatase-Aktivität Blei-Sulfid (braun-schwarzer Niederschlag) aus.

2. Unspezifische Esterasen

Das Prinzip der Azokupplungsmethode zur Darstellung der unspezifischen Esterasen besteht darin, als Substrat einen Naphthol-Ester zu verwenden und das im Zuge der enzymatischen Hydrolyse freiwerdende Naphthol durch Kupplung mit einem Diazoniumsalz in einen un-

löslichen farbigen Azofarbstoff (Phenol-Kupplungs-Reaktion) zu überführen (PEARSE 1968). Nach DAVIS u. ORNSTEIN (1959) ist als Kuppler "Hexazonium pararosaniline" besonders geeignet, da es sehr schnell reagiert und lipoidunlöslich ist.

Unspezifische Esterasen

(Azokupplungsmethode nach DAVIS u. ORNSTEIN 1959; α-Naphthylacetat als Substrat unter Verwendung von hexazotiertem basischem Fuchsin (Fuchsin NB Merck) als Kuppler nach STUTTE 1967).

Lösung A (Kuppler)

100 mg Basisches Fuchsin (Fuchsin NB Merck)
in
2,5 ml 2 n HCl
lösen.
100 mg Natriumnitrit
in
10 ml Aqua dest.
lösen.

Lösung B (Puffer)

500 mg di-Natriumhydrogenphosphat
in
20 ml Aqua dest. lösen

Lösung C (Substrat)

10 mg α-Naphthylacetat
in
0,5 ml Äthanol
lösen.

Inkubationslösung

Lösung A und Lösung B zusammenschütten und mit 1 n NaOH pH 7,5 einstellen. Dann Lösung C hinzugeben und mit Aqua dest. auf 50 ml auffüllen.

An Orten mit unspezifischer Esterasen-Aktivität fällt ein braun-roter Farbniederschlag aus.

ß) Oxidoreductasen (Dehydrogenasen)

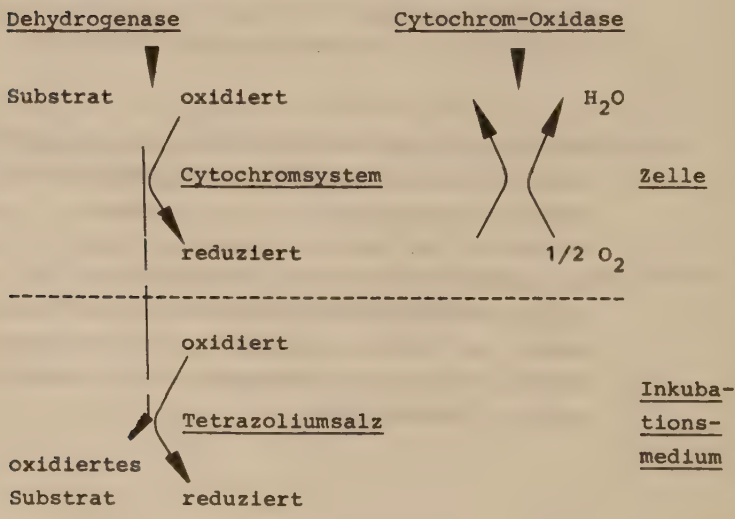
Nach REISS (1967) sind die wichtigsten Indikatoren beim histochemischen Nachweis der Dehydrogenasen die Tetrazoliumsalze. Zur spezifischen Dehydrogenasen-Darstellung muß der Inkubationslösung ein spezifisches Enzym-Substrat zugesetzt werden. Der aus diesem Substrat freigewordene Wasserstoff (bzw. die Elektronen) reduziert das Tetrazoliumsalz (farblos) irreversibel zu einem unlöslichen, farbigen Formazan. Als besonders geeignetes Tetrazoliumsalz gilt nach ROSA u. TSOU (1961) das TNBT ⌈2,2´,5,5´-Tetra-p-nitrophenyl-3,3´-(3,3´-dimethoxy-4,4´-biphenylen)-ditetrazoliumchlorid⌋, das sich durch ein hohes Redoxpotential sowie amorphe Struktur und Lipoidunlöslichkeit seines Formazans auszeichnet.

Unter physiologischen Bedingungen übertragen die NAD(P)-H_2-oxidierenden Enzyme den Wasserstoff auf das Cytochrom-System (NAD(P)-H_2 -Cytochrom c - Reductase). Dieses muß bei dem histochemischen Nachweis von Dehydrogenasen durch Zusatz von NaCN oder KCN in das Inkubationsmedium ausgeschaltet werden, damit der gesamte, vom Substrat abgespaltene Wasserstoff zur Reduktion des Tetrazoliumsalzes genutzt werden kann (ROSA u. VELARDO 1954).

1. Flavinnucleotid-gebundene anaerobe Dehydrogenasen

Zu den Flavinnucleotid-gebundenen anaeroben Dehydrogenasen gehören insbesondere die Cytochrom-reduzierenden Enzyme $NADH_2$-Cytochrom c -Reductase (bzw. $NADH_2$ - Tetrazolium-Reductase) und die Succinat-Dehydrogenase.

Das Schema nach REISS (1967) stellt im oberen Anteil die Vorgänge in der Zelle, im unteren die Reaktionen beim histochemischen Nachweis dar:



Als Substrat dient bei der $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase $NADH_2$, bei der Succinat-Dehydrogenase das Natrium-Succinat. Die Indikator-Reaktion erfolgt mit Hilfe der spezifischen Dehydrogenase durch direkte Übertragung des Wasserstoffes vom Substrat auf das Tetrazoliumsalz.

$NADH_2$-Tetrazolium-Reductase

(s. PEARSE 1972; mit TNBT als Acceptor, s. ROSA u. TSOU 1961)

Die Präparate wurden 60 min. bei 37° C in folgendem Medium inkubiert:

10	mg	Tetranitrobluetetrazoliumchlorid (TNBT)
		in (H_2-Acceptor)
30	ml	Aqua dest.
		lösen.
2	ml	0,1 m Natriumcyanid-Lösung (NaCN) (zur Hemmung der Cytochrom-Oxidase)
200	mg	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (Puffer)
50	mg	Dihydronicotinamid-adenin-dinucleotid ($NADH_2$) (Substrat)

An Orten mit $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase-Aktivität tritt ein schwarzer Formazan-Niederschlag auf.

Succinat-Dehydrogenase

(s. PEARSE 1972; mit TNBT als Acceptor, s. ROSA u. TSOU 1961)

Die Präparate wurden 3 Stunden bei 37° C in folgendem Medium inkubiert:

500	mg	Natrium-Succinat	(Substrat)
10	mg	Tetranitrobluetetrazoliumchlorid (TNBT)	(H_2-Acceptor)
200	mg	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan	(Puffer)
10	mg	Magnesiumchlorid	(Aktivator)
		in	
30	ml	Aqua dest.	
		lösen.	
2	ml	0,1 m Natriumcyanid-Lösung (NaCN) (zur Hemmung der Cytochrom-Oxidase)	

pH 7,4

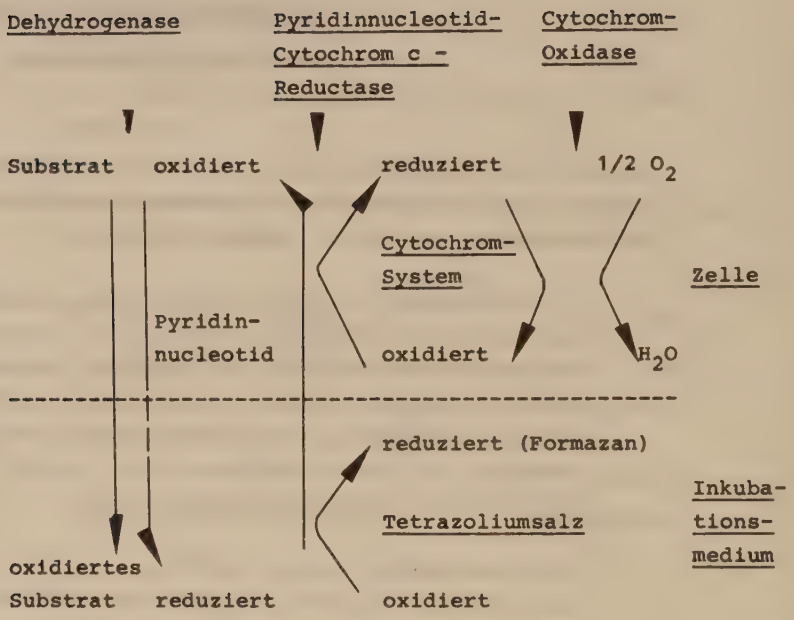
An Orten mit Succinat-Dehydrogenase-Aktivität fällt ein schwarzer Formazan-Niederschlag aus.

2. Pyridinnucleotid-gebundene anaerobe Dehydrogenasen

Wie das folgende Schema zeigt, ist der histochemische Nachweis der Pyridinnucleotid-gebundenen anaeroben Dehydrogenasen zweistufig (REISS 1967):

1) In Abhängigkeit von der nachzuweisenden Dehydrogenase wird das Substrat oxidiert und der abgespaltene Wasserstoff auf NAD oder NADP übertragen. Da die Pyridinnucleotide -im Gegensatz zu den Flavinnucleotiden- als prosthetische Gruppe nur locker an ihr Enzym angelagert sind, müssen sie der Inkubationslösung zugesetzt werden.

2) In einem zweiten Schritt wird das reduzierte Pyridinnucleotid durch die NAD(P)-H_2-Cytochrom c-Reductase reoxidiert, wobei als Wasserstoff-Acceptor ein Tetrazoliumsalz dient. Dieses wird durch die Reduktion in ein gefärbtes, wasserunlösliches Formazan übergeführt.



Bedeutende Vertreter der Pyridinnucleotid-gebundenen anaeroben Dehydrogenasen sind:

Lactat-Dehydrogenase (LDH),

Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase,

Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase.

Lactat-Dehydrogenase

(s. PEARSE 1972; mit TNBT als Acceptor, s. ROSA u. TSOU 1961)

Die Präparate wurden 60 min. bei 37° C in folgendem Medium inkubiert:

500	mg	Natrium-Lactat (Substrat)
10	mg	Tetranitrobluetetrazoliumchlorid (TNBT) (H_2-Acceptor)
200	mg	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (Puffer)
		in
30	ml	Aqua dest.
		lösen.
30	mg	Nicotin-adenin-dinucleotid (NAD) (Coenzym)
2	ml	0,1 m Natriumcyanid-Lösung (NaCN) (zur Hemmung der Cytochrom-Oxidase)
		pH 7,4

An Orten mit LDH-Aktivität fällt ein schwarzer Niederschlag aus.

Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase

(s. PEARSE 1972; mit TNBT als Acceptor, s. ROSA u. TSOU 1961)

Die Präparate wurden 3 Stunden bei 37° C in folgendem Medium inkubiert:

500	mg	Glucose-6-Phosphat (Substrat)
10	mg	Tetranitrobluetetrazoliumchlorid (TNBT) (H_2-Acceptor)
200	mg	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (Puffer)
30	mg	Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat (NADP) (Coenzym)
40	mg	Magnesiumchlorid (Aktivator)
		in
30	ml	Aqua dest.
		lösen.
2	ml	0,1 m Natriumcyanid-Lösung (NaCN) (zur Hemmung der Cytochrom-Oxidase)

pH 7,4

An Orten mit Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität fällt ein schwarzer Formazan-Niederschlag aus.

Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase

(nach WATTENBERG 1958; modifiziert nach LEVY 1959)

Die Präparate wurden 3 Stunden bei 37° C in folgendem Medium inkubiert:

10	mg	Dehydroepiandrosteron (DHA) (Substrat)
10	mg	Tetranitrobluetetrazoliumchlorid (TNBT) (H_2-Acceptor)
200	mg	Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (Puffer)
30	mg	Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) (Coenzym)
		in
30	ml	Aqua dest.
		lösen.
2	ml	0,1 m Natriumcyanid-Lösung (NaCN) (zur Hemmung der Cytochrom-Oxidase)

pH 7,4

An Orten mit Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase-Aktivität tritt ein schwarzer Formazan-Niederschlag auf.

c) Nachbehandlung der Präparate

Nach der Inkubation wurden die Präparate nach mehrfachem fließendem Wässern und Abspülen in Aqua dest. mit Glyceringelatine eingedeckt. Im Unterschied zu den Hydrolasen wurden die Dehydrogenasen vor ihrer Einschließung mit 10 %igem gepufferten Formalin (s. angegebenes Rezept bei der Vorfixierung, GOSLAR u. BOCK 1971) nachfixiert (PEARSE 1972).

d) Auswertung der Präparate

Zur Auswertung der histochemischen Enzym-Reaktions-Bilder wurde die subjektiv visuelle Abschätzung unter dem Mikroskop gewählt. In den Präparaten wurden sowohl die Lokalisation der dargestellten Enzyme als auch die Intensität der jeweiligen Reaktionen beurteilt. Zur Dokumentation wurden die Präparate auf CT 18 - Agfacolor - Dia - Filme aufgenommen.

B. Ergebnisse der enzymhistochemischen Untersuchungen über die Wirkung des experimentellen unilateralen Kryptorchismus am Hundehoden

(Versuchsanordnung: s. Seite 14;

Kontrolltier = keine Hodenverlagerung

orthotoper Hoden = scrotaler Hoden der operierten Tiere

dystoper Hoden = experimentell verlagerter Hoden)

Die histochemisch nachgewiesenen Enzyme finden sich vor allem in den Tubulusepithelien und in den Leydig-Zell-Komplexen. Bei positiven Reaktionsausfällen am Tubulusepithel war eine etwaige Aktivität der Sertoli-Zellen meist gut zu erkennen, die Zuordnung des Reaktionsproduktes zu einzelnen Zelltypen der Spermatogenese jedoch nur selten möglich. In der folgenden Befundbeschreibung wird daher nur zwischen Sertoli-Zellen und (übrigem) Tubulusepithel unterschieden.

1. Gruppe I - praepuberale Tiere

Alkalische Phosphatase: Dieses Enzym stellt sich weder im Hoden der Kontrolltiere noch im Hoden operierter Tiere dar.

Saure Phosphatase: Die K o n t r o l l t i e r e zeigen eine sehr starke Aktivität des gesamten Zytoplasmas der Sertoli-Zellen und eine starke Farbstoffbeladung des lumennahen Epithelbereiches der Tubuli. Im Interstitium lassen nur einzelne, verstreut liegende Zellen mittelstarke, feingranuläre Farbstoffablagerungen erkennen (Abb. 1a). Gegenüber den Kontrolltieren ist der o r t h o t o p e Hoden unverändert. Im d y s t o p e n Hoden läßt sich in den vorgenannten Epithelbereichen eine unregelmäßige Verminderung der Aktivität feststellen. Die lumenwärts gelegenen Zellgrenzen erscheinen dabei verwaschen (Abb. 1b).

Unspezifische Esterasen: In den Sertoli-Zellen der K o n t r o l l t i e r e besteht eine hohe Aktivität. Die übrigen Tubulusepithelien stellen sich etwas schwächer dar. Die Aktivitätsverteilung gleicht derjenigen der sauren Phosphatase. Im Interstitium zeigen einzelne Zellen mäßige Aktivität. Im o r t h o t o p e n Hoden ist der gleiche Befund zu erheben. Die Sertoli-Zellen des d y s t o p e n Hodens sind unverändert, während das übrige Tubulus-

epithel eine unterschiedliche Aktivitätsabnahme und eine unscharfe Begrenzung erkennen läßt.

Lactat-Dehydrogenase: Es besteht eine beträchtliche, gleichmäßig in den Zellen verteilte Farbstoffintensität im Samenepithel der Kontrolltiere. Die Leydig-Zell-Verbände heben sich durch ihre starke Anfärbung hervor (Abb. 2a). Im orthotopen Hoden haben die Samenepithelien gering an Aktivität abgenommen. Das gesamte Interstitium ist dadurch noch stärker kontrastiert (Abb. 2b). Im dystopen Hoden läßt sich ebenfalls ein Aktivitätsverlust des Tubulusepithels nachweisen, wobei die lumennahen Zellen etwas farbintensiver erscheinen. Die Leydig-Zell-Komplexe haben sich relativ vergrößert und an Farbintensität zugenommen (Abb.2c).

$NADH_2$-Tetrazolium-Reductase: Die Aktivität gleicht sowohl in ihrer Lokalisation als auch in ihrer Stärke derjenigen der Lactat-Dehydrogenase.

Succinat-Dehydrogenase: Bei den Kontrolltieren verhält sich das Tubulusepithel mäßig aktiv, wobei die Farbstoffgranula oft unregelmäßig verteilt sind. Im Interstitium haben die Leydig-Zell-Komplexe eine etwas geringere Farbintensität als die Tubuli. Der orthotope Hoden zeigt den gleichen Befund. Die Tubuluszellen des dystopen Hodens lassen keine wesentliche Änderung in

der Anfärbbarkeit erkennen, die Leydig-Zell-Komplexe haben dagegen eine geringe Aktivitätssteigerung erfahren.

Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase: Das Tubulusepithel reagiert bei den K o n t r o l l t i e r e n mäßig positiv. Die Leydig-Zellen färben sich stark an; das übrige Interstitium zeigt nur hier und da Aktivität (Abb. 3a). Im o r t h o t o p e n Hoden nimmt die Aktivität in den Leydig-Zellen erheblich zu (Abb. 3b). Im d y s t o p e n Hoden ist diese Aktivitätszunahme noch stärker (Abb. 3c).

Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase: Bei den K o n t r o l l t i e r e n sind die Tubuluszellen negativ, während die Leydig-Zell-Komplexe gering angefärbt sind. Die Aktivität letzterer nimmt im o r t h o t o p e n Hoden deutlich zu (Abb. 4a) und ist im d y s t o p e n Hoden am stärksten (Abb. 4b). Da sich bei diesem Enzym sämtliche Zellen des Leydig-Zell-Komplexes relativ gleichmäßig stark darstellen, somit also der gesamte Komplex färberisch erfaßt wird, hat man hier den Eindruck einer Flächenvergrößerung.

2. Gruppe II - postpuberale Tiere

Der o r t h o t o p e Hoden geschlechtsreifer Hunde verhält sich bei den dargestellten Enzymen - mit Ausnahme der LDH und der $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase im Tubulusepithel und der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase in den Leydig-Zell-Komplexen - wie der Hoden nichtoperierter Kontrolltiere.

Alkalische Phosphatase: Bei den K o n t r o l l - t i e r e n zeigt sich eine schwache Aktivität in den basalen Anteilen des Samenepithels, in den Endstufen der Spermatogenese und - etwas stärker - in der Basalmembran und den Gefäßwänden. Die Leydig-Zellen sind ungefärbt. Im d y s t o p e n Hoden treten die verdickten Basalmembranen durch starke Aktivitätszunahme hervor. Die lumennahen Tubulusabschnitte sind hier farbschwächer.

Saure Phosphatase: Es besteht eine starke Farbintensität der Sertoli-Zellen bei den K o n t r o l l - t i e r e n , während die übrigen Tubulusepithelien keine wesentlichen Farbstoffablagerungen aufweisen. Im gesamten Interstitium ist nur in einzelnen Leydig-Zellen Aktivität nachweisbar (Abb. 5a). Bedingt durch eine Schrumpfung der Tubuli sind die Sertoli-Zellen im d y s t o p e n Hoden näher zusammengerückt. Ihre Aktivität ist gleichgeblieben. Im Interstitium er-

scheinen nun die Leydig-Zell-Komplexe gering mit Farbstoff beladen (Abb. 5b).

Unspezifische Esterasen: Bei den K o n t r o l l t i e r e n besteht eine selektive starke Anfärbung der Sertoli-Zellen, während im Samenepithel nur schwache, feingranuläre Ablagerungen erkennbar sind. Die Leydig-Zell-Komplexe heben sich schwach aus dem Interstitium hervor. Die einzelnen Zellen zeigen dabei eine unterschiedliche Farbstoffbeladung (Abb. 6a). In den Leydig-Zellen des d y s t o p e n Hodens hat die Aktivität abgenommen (Abb. 6b).

Lactat-Dehydrogenase: Das Tubulusepithel der K o n t r o l l t i e r e ist mittelstark und gleichmäßig mit Farbstoff beladen. Die Leydig-Zellen reagieren stark positiv (Abb. 7a). Der o r t h o t o p e Hoden zeigt das gleiche Enzymbild (Abb.7b). In den geschrumpften Tubuli des d y s t o p e n Hodens sind nur noch die Sertoli-Zellen aktiv. Das übrige Epithel erscheint kaum gefärbt. Die Leydig-Zellen weisen eine erhebliche Aktivitätszunahme auf; die Farbstoffgranula haben sich zu massiv konfluierenden Gebilden entwickelt (Abb. 7c).

$NADH_2$-Tetrazolium-Reductase: Die Sertoli-Zellen der K o n t r o l l t i e r e sind stark aktiv. Das Samenepithel zeigt unterschiedliche Farbintensität. Die Leydig-Zellen treten durch ihre Farbstoffbeladung

massiv hervor. Im orthotopen Hoden erscheinen bei unveränderten Tubuli die Leydig-Zell-Komplexe meist vergrößert. Im dystopen Hoden haben letztere weiter an Größe und Intensität zugenommen.

Succinat-Dehydrogenase: Die basalen Anteile des Samenepithels der Kontrolltiere sind stärker aktiv als die apikalen Anteile. Die Sertoli-Zellen erscheinen gleichmäßig stark mit Farbstoff beladen. Das gleiche gilt auch für die Leydig-Zell-Komplexe, deren Farbintensität im dystopen Hoden zugenommen hat.

Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase: Die Samenepithelzellen der Kontrolltiere reagieren mäßig, die Sertoli-Zellen stärker positiv. Bei negativer Reaktion des Interstitiums heben sich die stark positiven Leydig-Zellen ab (Abb. 8a). Der orthotope Hoden zeigt keine Veränderungen (Abb. 8b). Im dystopen Hoden ist der Befund dem für LDH beschriebenen ähnlich (Abb. 8c).

Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase: Die Sertoli-Zellen der Kontrolltiere reagieren schwach positiv. Die Leydig-Zell-Komplexe weisen eine mäßige Farbstoffablagerung auf (Abb. 9a). Im orthotopen Hoden erscheinen die Leydig-Zell-Komplexe stärker aktiv. Im dystopen Hoden hat ihre Anfärbung noch mehr zugenommen (Abb. 9b).

C. Abbildungen zu den Ergebnissen enzymhistochemischer Untersuchungen

Abb. 1a - b: Hoden eines praepuberalen Hundes,
saure Phosphatase,
vorfixierter Kryostatschnitt, 20 µm,
Vergr. ca. 250-fach.

a) Hoden eines Kontrolltieres

b) dystoper Hoden eines Versuchstieres

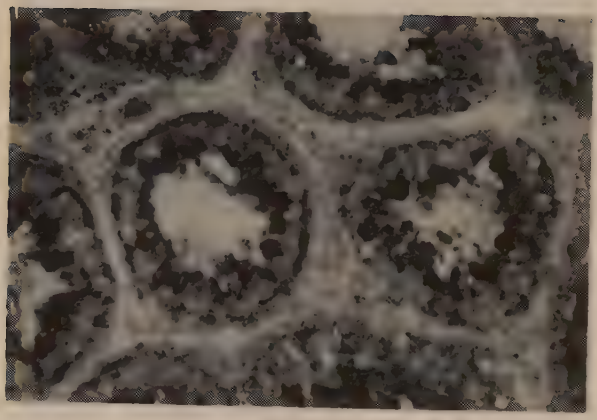


Abb. 1a

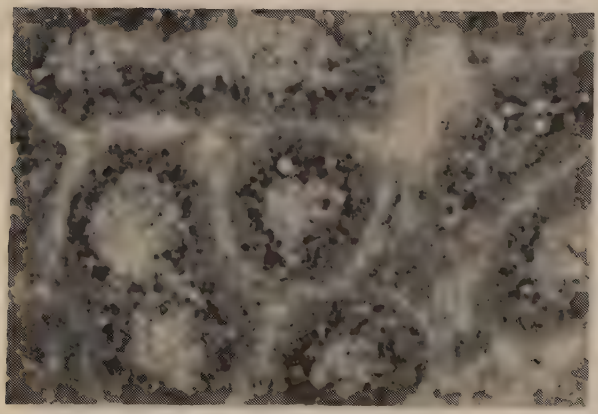


Abb. 1b

Abb. 2a - c: Hoden eines praepuberalen Hundes,
Lactat-Dehydrogenase,
vorfixierter Kryostatschnitt, 20 µm,
Vergr. ca. 100-fach.

a) Hoden eines Kontrolltieres
b) orthotoper Hoden eines Versuchstieres
c) dystoper Hoden eines Versuchstieres

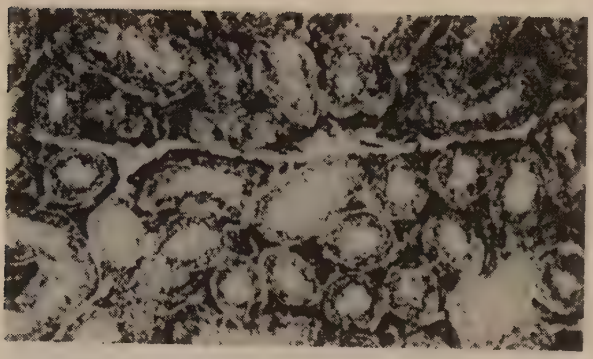


Abb. 2a

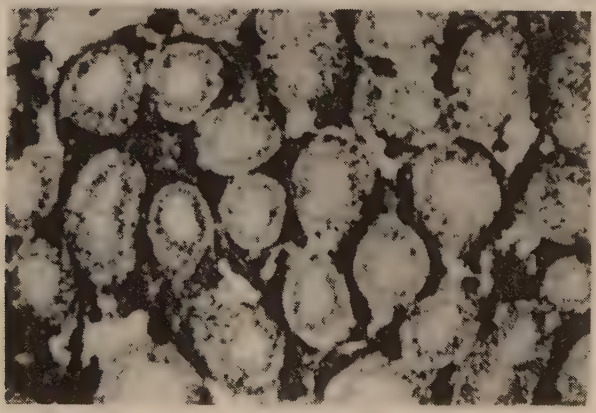


Abb. 2b

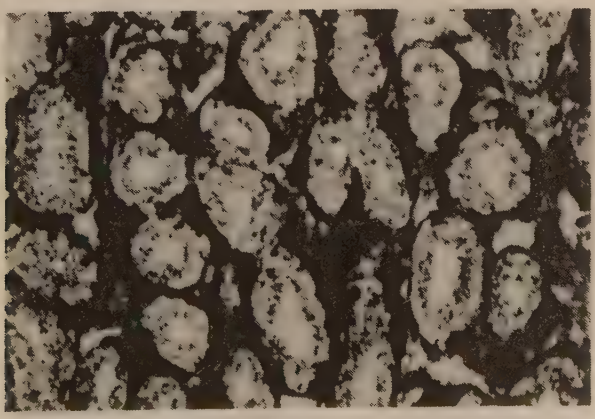


Abb. 2c

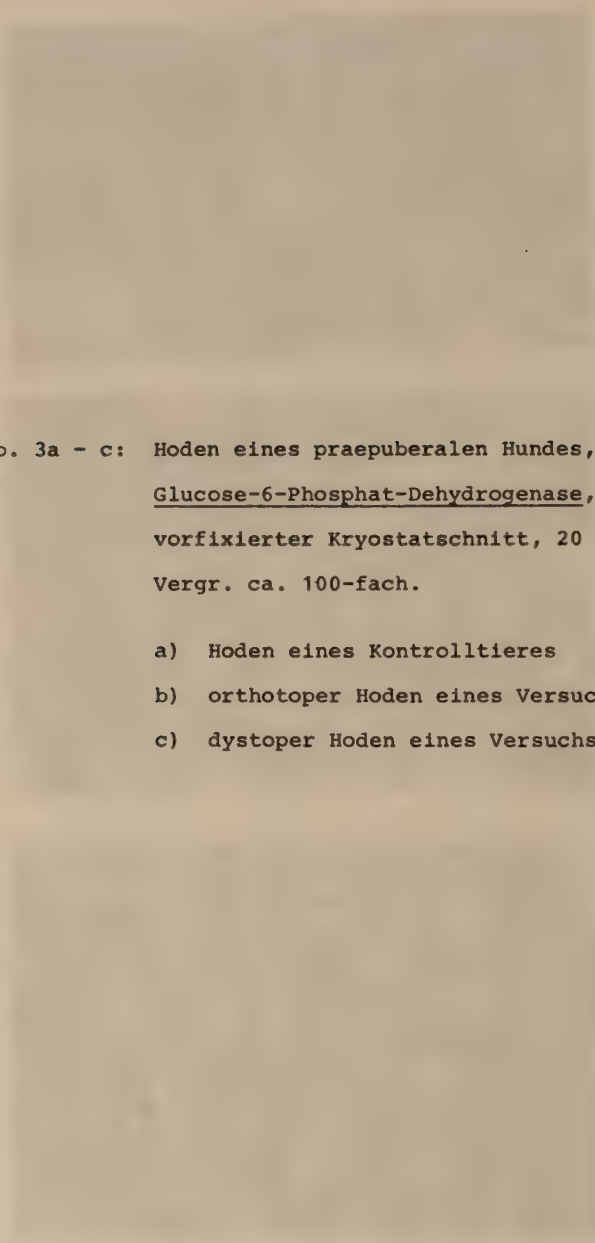


Abb. 3a - c: Hoden eines praepuberalen Hundes, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, vorfixierter Kryostatschnitt, 20 µm, Vergr. ca. 100-fach.

a) Hoden eines Kontrolltieres

b) orthotoper Hoden eines Versuchstieres

c) dystoper Hoden eines Versuchstieres

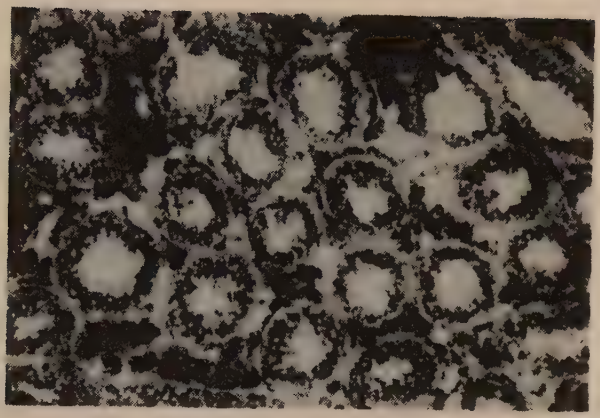


Abb. 3a

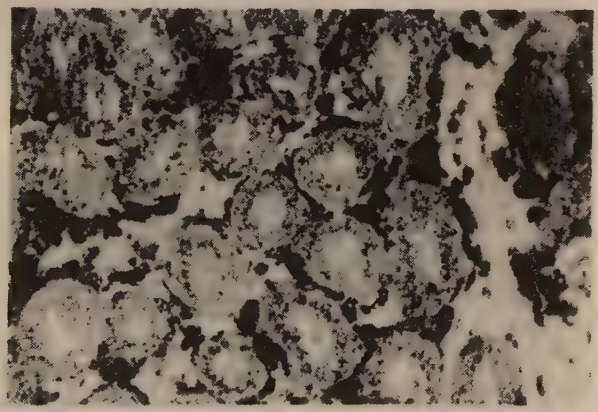


Abb. 3b

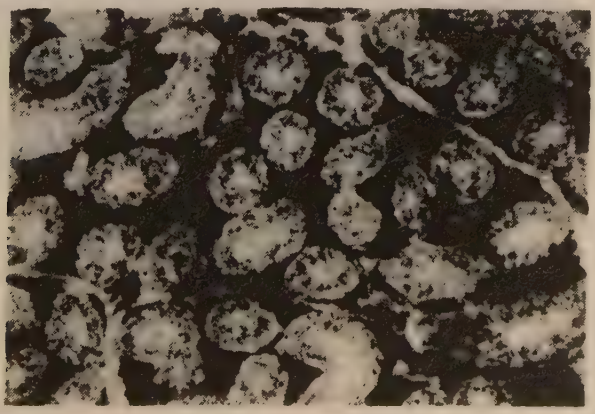


Abb. 3c

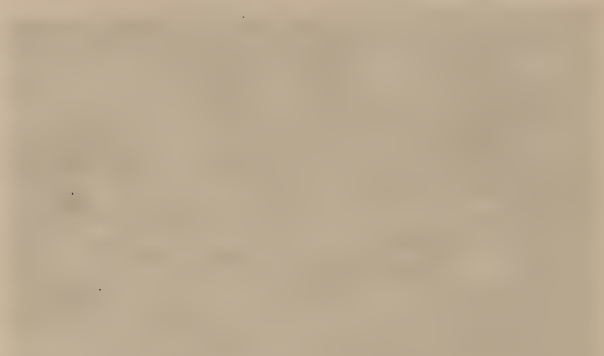


Abb. 4a - b: Hoden eines praepuberalen Hundes,
Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase,
vorfixierter Kryostatschnitt, 20 µm,
Vergr. ca. 100-fach.

a) orthotoper Hoden eines Versuchstieres

b) dystoper Hoden eines Versuchstieres

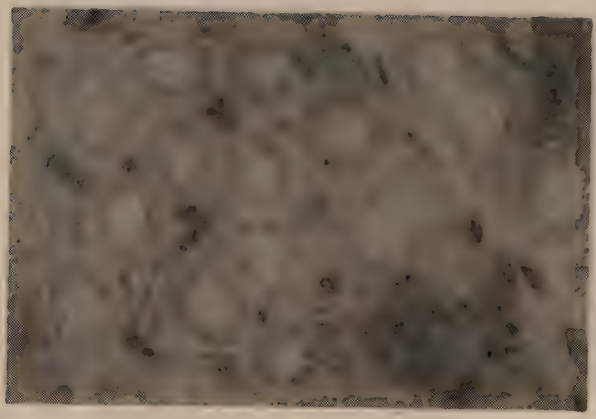


Abb. 4a

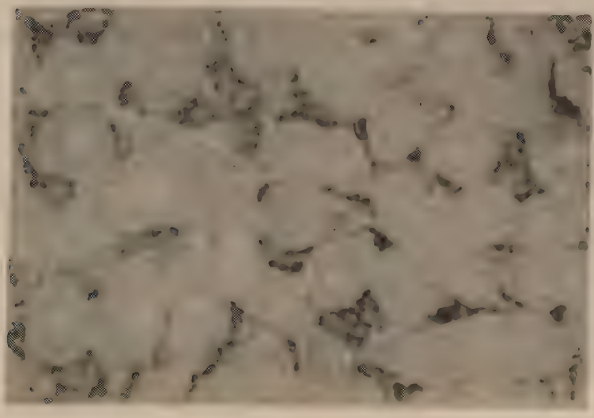


Abb. 4b

Abb. 5a - b: Hoden eines postpuberalen Hundes,
saure Phosphatase,
vorfixierter Kryostatschnitt, 20 µm,
Vergr. ca. 100-fach.

a) Hoden eines Kontrolltieres

b) dystoper Hoden eines Versuchstieres

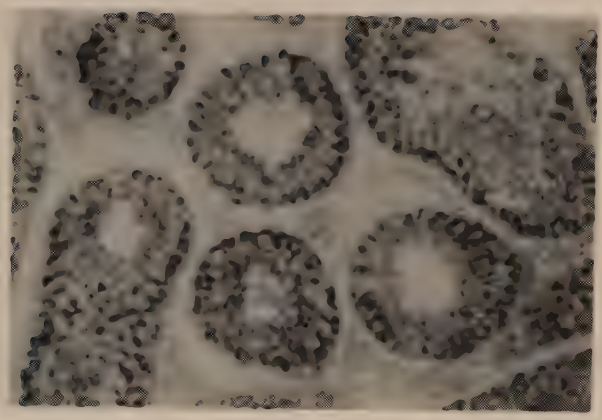


Abb. 5a

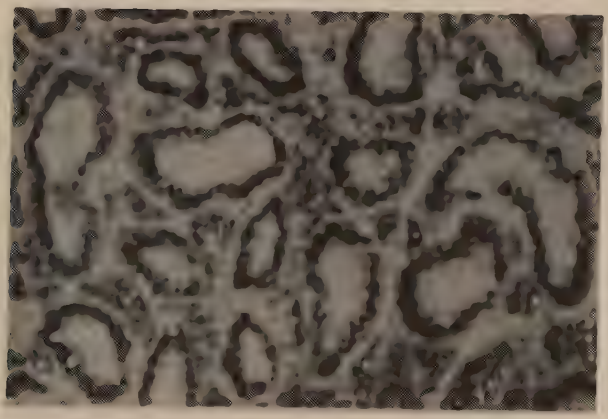


Abb. 5b

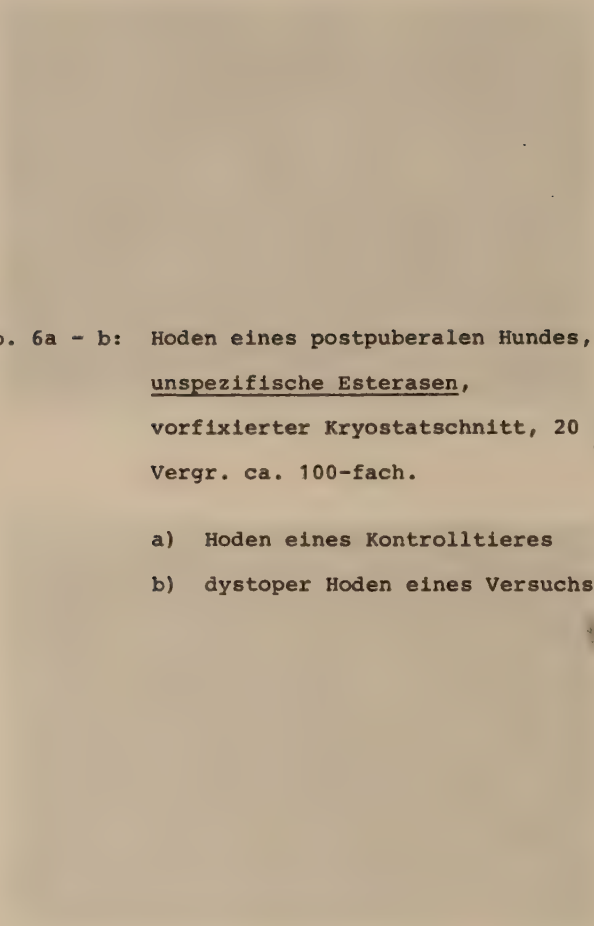


Abb. 6a - b: Hoden eines postpuberalen Hundes,
unspezifische Esterasen,
vorfixierter Kryostatschnitt, 20 µm,
Vergr. ca. 100-fach.

a) Hoden eines Kontrolltieres

b) dystoper Hoden eines Versuchstieres

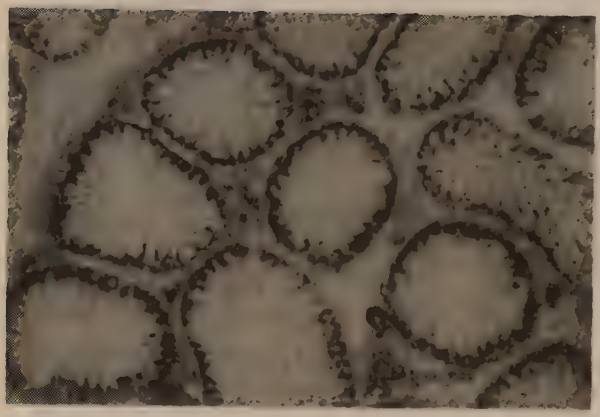


Abb. 6a

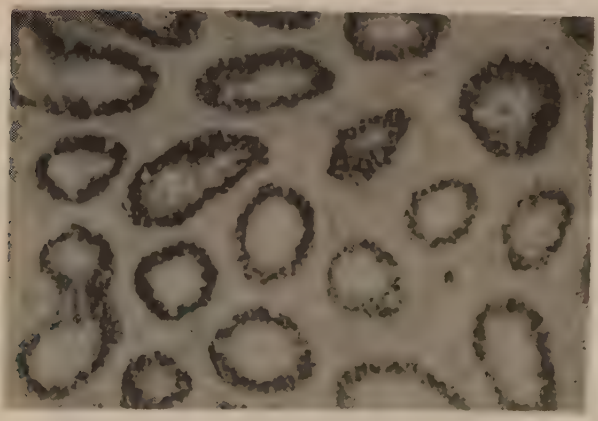


Abb. 6b

Abb. 7a - c: Hoden eines postpuberalen Hundes,
Lactat-Dehydrogenase,
vorfixierter Kryostatschnitt, 20 µm,
Vergr. ca. 100-fach.

a) Hoden eines Kontrolltieres
b) orthotoper Hoden eines Versuchstieres
c) dystoper Hoden eines Versuchstieres

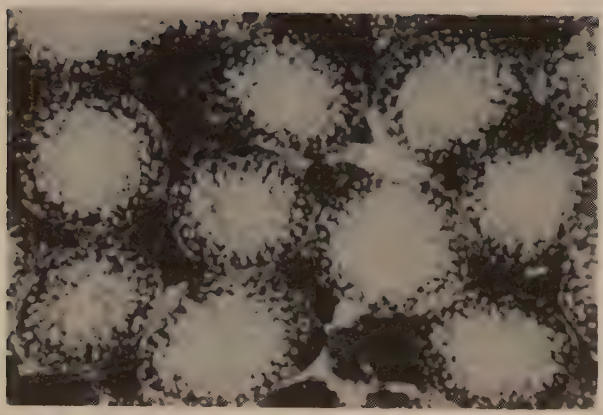


Abb 7a

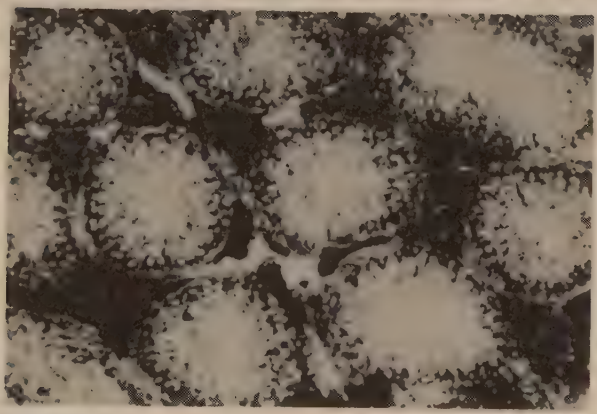


Abb. 7b

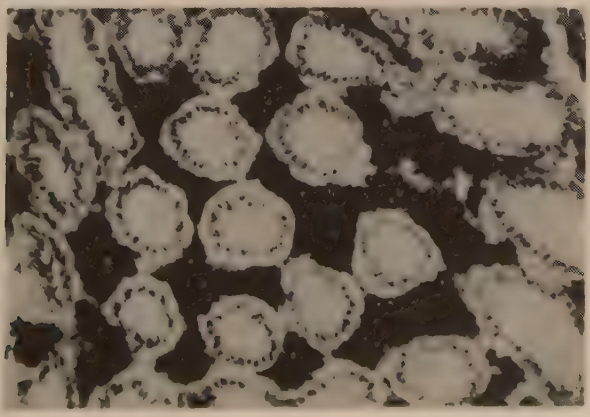


Abb. 7c

Abb. 8a - c: Hoden eines postpuberalen Hundes, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, vorfixierter Kryostatschnitt, 20 µm, Vergr. ca. 100-fach.

a) Hoden eines Kontrolltieres

b) orthotoper Hoden eines Versuchstieres

c) dystoper Hoden eines Versuchstieres

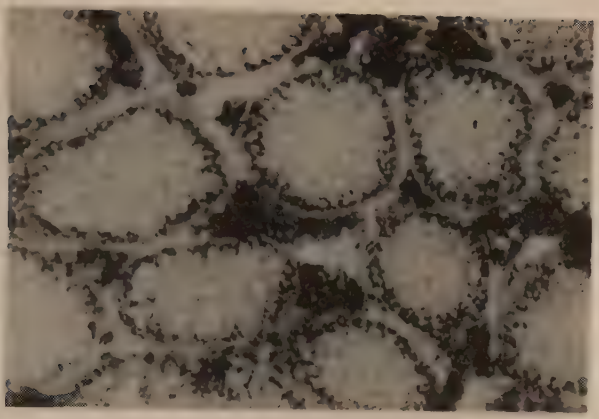


Abb. 8a

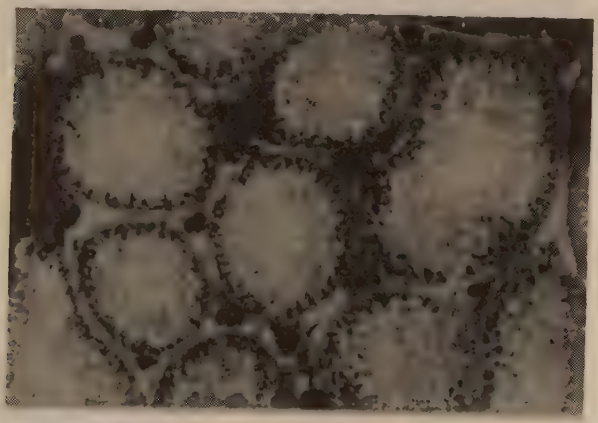


Abb. 8b

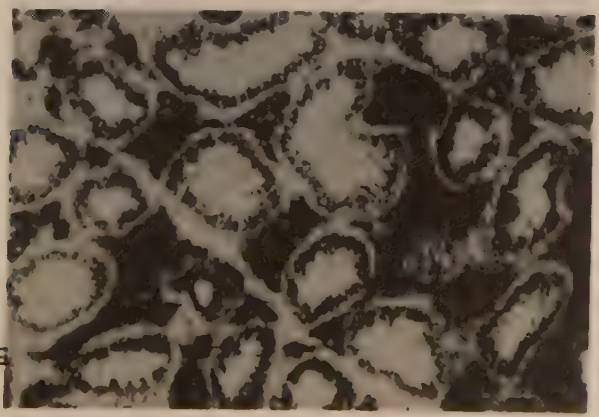


Abb. 8c

Abb. 9a - b: Hoden eines postpuberalen Hundes,
Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase,
vorfixierter Kryostatschnitt, 20 µm,
Vergr. ca. 100-fach.

a) Hoden eines Kontrolltieres

b) dystoper Hoden eines Versuchstieres

Abb. 9a

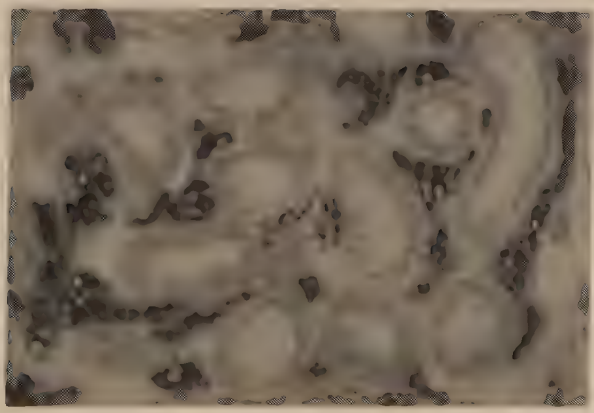


Abb. 9b

III. DISKUSSION

Wie die in Tabelle I und II zusammengefaßten Befunde zeigen, kommt es unter den Bedingungen des experimentellen unilateralen Kryptorchismus bei prae- und postpuberalen Hunden zu histochemisch faßbaren Änderungen von Enzym-Aktivitäten im dystopen (kryptorchen) und orthotopen (scrotalen) Hoden. Sie betreffen das Tubulusepithel und die Leydig-Zell-Komplexe.

⊏ s. Tabelle I: Seite 59

Tabelle II: Seite 60;

Zeichenerklärung:

--- = keine Änderung der Enzym-Aktivität

↑ = Zunahme der Enzym-Aktivität

↓ = Abnahme der Enzym-Aktivität ⊐

Tabelle I: Enzym-Aktivitätsänderungen im Hoden praepuberaler Hunde

	orthotoper Hoden			dystoper Hoden		
Dargestelltes Enzym	Tubulus-epithel	L	Z K	Tubulus-epithel	L	Z K
Alkalische Phosphatase	---	---		---	---	
Saure Phosphatase	---	---		↓	---	
Unspezifische Esterasen	---	---		↓	---	
Lactat-Dehydrogenase	↓	---		↓	↑	
$NADH_2$-Tetrazolium-Reductase	↓	---		↓	↑	
Succinat-Dehydrogenase	---	---		---	↑	
Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase	---	↑		---	↑	
Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase	---	↑		---	↑	

Tabelle II: Enzym-Aktivitätsänderungen im Hoden postpuberaler Hunde

	orthotoper Hoden			dystoper Hoden		
Dargestelltes Enzym	Tubulus-epithel	L	Z K	Tubulus-epithel	L	Z K
Alkalische Phosphatase	---	---		Basalmembran ↑ / apikales Epithel ↓	---	
Saure Phosphatase	---	---		---	↑	
Unspezifische Esterasen	---	---		---	↓	
Lactat-Dehydrogenase	---	---		↓	↑	
$NADH_2$-Tetrazolium-Reductase	---	---		---	↑	
Succinat-Dehydrogenase	---	---		---	↑	
Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase	---	---		↓	↑	
Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase	---	↑		---	↑	

Veränderungen in Tubulusepithel und Leydig-Zellen des d y s t o p e n Hodens

Im kryptorchen Hoden findet sich im Tubulusepithel der praepuberalen Tiere ein Aktivitätsverlust der sauren Phosphatase, der unspezifischen Esterasen, der Lactat-Dehydrogenase und der $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase. Bei den postpuberalen Tieren zeigt sich eine Abnahme der alkalischen Phosphatase im lumennahen Keimepithelbereich, aber eine Zunahme in der Basalmembran der Tubuli. LDH und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase erleiden einen Aktivitätsverlust. In den Leydig-Zellen ist sowohl bei prae- als auch bei postpuberalen Tieren eine verstärkte Aktivität von SDH, $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase, LDH, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase nachweisbar.

Die Befunde stimmen mit den Angaben anderer Autoren, die das Enzymverhalten in dystopen Hoden von Nagern histochemisch untersuchten, weitgehend überein (SAKATOKU u. MIURA, 1957; TURPEINEN et al., 1962; BLACKSHAW u. SAMISONI, 1966; BREITENECKER et al., 1972). Abweichende Ergebnisse finden sich lediglich bei KORMANO et al. (1964).

Die im Tubulusepithel des dystopen Hodens nachgewiesene Aktivitätsabnahme verschiedener Enzyme entspricht den sich unter gleichen Versuchsbedingungen

ausbildenden histologischen Veränderungen. So fanden TEPPERMAN et al. (1949) sowie LLAURADO u. DOMINGUEZ (1963) im kryptorchen Rattenhoden atrophierte Tubuli. Nach NELSON (1951), LYNCH u. SCOTT (1951), KORMANO et al. (1964) und BREITENECKER et al.(1972) kommt es im dystopen Rattenhoden zu einer Degeneration des Samenepithels, die nach WALSH u. SWERDLOFF (1973) bis zu einem totalen Keimzellverlust führen kann. Über entsprechende Beobachtungen am kryptorchen Hundehoden berichten SHIRAI et al. (1966). Als Ursache der enzymhistochemischen und histologischen Veränderungen dürfte die von CLEGG (1960), LLAURADO u. DOMINGUEZ (1963), KORMANO et al. (1964) sowie MOREHEAD u. MORGAN (1967) nachgewiesene Abnahme der Androgen-Produktion im kryptorchen Hoden und die daraus resultierende herabgesetzte Kontaktwirkung des Testosterons auf das Samenepithel anzusehen sein.

Der Aktivitätsanstieg der Dehydrogenasen in den Leydig-Zellen des kryptorchen Hodens weist darauf hin, daß in den Zellen eine erhöhte Stoffwechselaktivität besteht:

1. kann aus der Zunahme von $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase- und SDH-Aktivität gefolgert werden, daß die Oxidationsprozesse -bzw. der Energieumsatz- in den Zellen gesteigert sind;

2. läßt das Ansteigen der LDH-Aktivität auf eine erhöhte anaerobe Glykolyse und damit auf eine gesteigerte Bereitstellung von Pyruvat für die Einschleusung in den Citratzyklus schließen;

3. deutet die Zunahme der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität auf eine vermehrte Produktion von $NADPH_2$ hin, das als H_2-Donator eine wichtige Rolle in der Steroid-Synthese spielt.

4. kann angenommen werden, daß aus einer Zunahme der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase-Aktivität eine erhöhte Oxidationsrate der 3ß-Hydroxy-Gruppe von Dehydroepiandrosteron (DHA) resultiert.

Die Befunde entsprechen der durch histologische Untersuchungen nachgewiesenen Hyperplasie der Leydig-Zellen im dystopen Hoden (HANES u. HOOKER, 1937; LYNCH u. SCOTT, 1951; CLEGG, 1960, 1961; SHIRAI et al.,1966). Es ist anzunehmen, daß die Veränderungen durch eine Steigerung des LH-Serum-Spiegels ausgelöst werden, wie sie von ALTWEIN u. GITTES (1972) bei Ratten mit kryptorchen Hoden beobachtet wurde. Hierfür spricht auch, daß die unter den Bedingungen des experimentellen Kryptorchismus gefundenen Enzym-Aktivitätsänderungen in den Leydig-Zellen mit denjenigen übereinstimmen, die nach Gonadotropin- und Milz-Dialysat-Injektionen auftreten (GOSLAR et al., 1969; GRIGORIADIS et al., 1969; BREITENECKER et al., 1972).

An dieser Stelle erhebt sich die Frage, warum die Androgen-Produktion in kryptorchen Hoden trotz erhöhter LH-Serum-Spiegel und trotz der histochemisch nachgewiesenen gesteigerten Stoffwechselaktivität der Leydig-Zellen herabgesetzt ist (vergl. oben, sowie EIKNES, 1966; ABRAHAM et al., 1973). Zur Erklärung die-

ses Phänomens kann man annehmen, daß entweder das Substrat-Angebot an den dystopen Hoden gestört ist, oder unter diesen Bedingungen in der Enzymkette der Steroid-Synthese an bisher noch nicht bekannter Stelle eine Aktivitätsminderung eintritt.

Veränderungen in Tubulusepithel und Leydig-Zellen des o r t h o t o p e n Hodens

Die enzymhistochemisch faßbaren Veränderungen am orthotopen Hundehoden sind nur relativ geringfügig. Bei den praepuberalen Tieren fand sich eine leichte Abnahme der LDH-Aktivität und der $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase-Aktivität im Samenepithel, außerdem eine Aktivitätszunahme der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase sowie der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase in den Leydig-Zellen. Im orthotopen Hoden postpuberaler Tiere zeigte lediglich die Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase der Leydig-Zellen eine Aktivitätssteigerung.

Besonderes Interesse verdient der Abfall der LDH-Aktivität sowie der $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase-Aktivität im Tubulusepithel. Der Befund entspricht den Beobachtungen von SHIRAI et al. (1966), die in biochemischen Untersuchungen eine Abnahme der LDH-Aktivität (und der SDH-Aktivität) im orthotopen Hoden von Hunden mit unilateralem Kryptorchismus nachwiesen und histologisch Degenerationserscheinungen am Tubulusepithel des orthotopen Hodens fanden. Es muß daher angenommen werden, daß die Funktionsstörung des

dystopen Hodens eine Schädigung des orthotopen Hodens induziert. Die Frage, auf welchem Wege diese zustandekommen könnte, ist zur Zeit noch nicht endgültig zu beantworten.

Bei der Entstehung der primären Schädigung des dystopen Hodens könnten die veränderten Temperaturverhältnisse eine Rolle spielen. Aufgrund des Wegfalls der thermoregulatorischen Funktion des Scrotums (MOORE u. QUICK, 1924) besitzt der dystope Hoden eine höhere Temperatur als der scrotale Hoden. Nach YOUNG (1927) sowie WILLIAMS u. CUNNINGHAM (1940) führt kurzzeitige Erwärmung der Hoden in vivo zu degenerativen Veränderungen des Samenepithels, die denjenigen bei Kryptorchismus ähnlich sind.

Die sekundäre Schädigung des orthotopen Hodens könnte mit dem durch den Abfall der Androgen-Produktion (im dystopen Hoden) ausgelösten Anstieg des LH-Serum-Spiegels in Zusammenhang stehen. Beim Menschen haben RABOCH (1973) sowie KOCH et al. (1975) Normabweichungen der Serumgonadotropine bei uni- und bilateralem Hodenhochstand nachgewiesen. Nach ALTWEIN u. GITTES (1972) sowie KOCH et al. (1975) soll der Anstieg des Serum-LH eine Schädigung der Hoden verursachen, die selektiv die Tubuli, jedoch auch die Leydig-Zellen betreffen kann.

Einige Untersuchungen sprechen auch dafür, daß die Veränderungen im orthotopen Hoden auf eine Auto-Antigen-Reaktion zurückgehen. So fanden sich bei Patienten mit unilateralem Kryptorchismus Spermaagglutinine

im Spermaplasma (SCHOYSMAN, 1970; HAENSCH, 1969, 1970), bei denen es sich um echte Antikörper handelt (RÜMKE u. HELLINGA, 1959).

Wie die Befunde von LUDWIG u. POTEMPA (1975) verdeutlichen, ist die Gefahr einer Mitschädigung des orthotopen Hodens bei unilateralem Kryptorchismus umso größer, je länger der pathologische Zustand besteht. Bei Kindern mit unilateralem Kryptorchismus, die im ersten und zweiten Lebensjahr operiert wurden, trat später nur in 12,5 % der Fälle eine Infertilität ein. Dagegen war bei 42,9 % der Patienten, die im 3. und 4. Lebensjahr und bei 61,5 % der Patienten, die zwischen dem 5. und 8. Lebensjahr operiert wurden, eine Infertilität zu beobachten. Hatte man erst nach dem 13. Lebensjahr operiert, erwiesen sich 85,7 % der Patienten als steril. Es sollte daher die Forderung nach einer Frühbehandlung des Maldescensus testis möglichst vor Abschluß des 2. Lebensjahres unterstützt werden. Da zu diesem Zeitpunkt im allgemeinen noch keine irreversible Keimdrüsenschädigung eingetreten ist (HECKER, 1971, 1972; HEDINGER, 1971; HÖSLI, 1971), könnte in diesem Fall mit einer besseren Fertilitäts-Prognose gerechnet werden.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde das Verhalten verschiedener Enzyme im orthotopen und dystopen Hoden prae- und postpuberaler Hunde unter den Bedingungen eines über 3 Monate bestehenden experimentellen unilateralen Kryptorchismus überprüft. Folgende Befunde konnten erhoben werden:

1. Junge, nichtgeschlechtsreife Tiere zeigen gegenüber Kontrolltieren auch im orthotopen Hoden Änderungen des Enzymverhaltens. Das Tubulusepithel erfährt einen Aktivitätsverlust an LDH und $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase, während in den Leydig-Zell-Komplexen ein Aktivitätsanstieg der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase zu verzeichnen ist.

2. Im dystopen Hoden der nichtgeschlechtsreifen Tiere kommt es zur Aktivitätsabnahme der sauren Phosphatase, der unspezifischen Esterasen, der LDH und der $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase im Samenepithel. Die Leydig-Zell-Komplexe zeigen eine Aktivitätszunahme der LDH, der $NADH_2$-Tetrazolium-Reductase, der SDH, der Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und der Steroid-3ß-ol-Dehydrogenase.

3. Der orthotope Hoden postpuberaler Tiere verhält sich wie der Hoden nichtoperierter Kontrolltiere. Lediglich die Aktivität der Steroid-3ß-ol-Dehy-

drogenase nimmt in den Leydig-Zellen zu.

4. Im dystopen Hoden postpuberaler Hunde findet sich im Tubulusepithel eine Abnahme der alkalischen Phosphatase im lumennahen Keimepithelbereich, aber eine Zunahme in der Basalmembran der Tubuli. LDH und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase erleiden einen Aktivitätsverlust. Die Leydig-Zell-Komplexe reagieren - mit Ausnahme der sauren Phosphatase, deren Aktivität zunimmt und der unspezifischen Esterasen, deren Intensität abnimmt - wie die der nichtgeschlechtsreifen Tiere.

Da sowohl bei den praepuberalen als auch bei den postpuberalen Tieren Alterationen im Metabolismus von Keimepithel und Leydig-Zell-Komplexen nachgewiesen werden konnten, ist die geforderte Frühbehandlung mit Abschluß des 2. Lebensjahres für Patienten mit einem Maldescensus testis in Hinsicht auf die spätere Fertilitäts-Prognose als berechtigt anzusehen.

V. LITERATURVERZEICHNIS

ABRAHAM, R.
BORN, H.-J.
COLLISCHONN, G.
DERICKS-TAN, J.S.E.
TAUBERT, H.-D.
Testosteronbiosynthese in spontan dystopen Testes von Ratten mit einer genetisch bedingten Deszensusstörung
Endokrinologie 62 (1973) 368

ALTWEIN, J.A.
GITTES, R.F.
Untersuchungen der hypophysär-gonadalen Wechselbeziehungen beim experimentellen Kryptorchismus
1.Symp.Exper. Urolog.Abstracta S. 2, Köln 1972

AMBRADKAR, P.M.
GEORGE, J.C.
Histochemical localization of certain oxidative enzymes in the rat testis
J. Histochem. Cytochem. 12 (1964) 587

ANKERHOLD, J.
GRESSMANN, C.
Hodendeszensusstörungen bei frühkindlichem Hirnschaden
Z. Kinderheilk. 107 (1969) 15

BAILLIE, A.H.
GRIFFITHS, K.

3ß-hydroxysteroid dehydrogenase activity in the mouse Leydig-cell
J. Endocrinol. 29 (1964) 9

BAILLIE, A.H.
FERGUSON, M.M.
HART, D.Mck.

Evidence of steroid metabolism and possible biosynthesis in the human genital ridge mesenchyme
J.Clin.Endocrinol. 26(1966)738

BARKA, T.
ANDERSON, P.J.

Histochemical methode for acid phosphatase using hexazonium pararosaniline as coupler
J. Histochem.Cytochem. 10 (1962) 741

BAUER, U.
HASSE, W.

Die Retentio testis im Kindesalter
Med. Wschr. 24 (1970) 7

BAUST, P.
GOSLAR, H.G.
TONUTTI, E.

Das Verhalten einiger Phosphatasen im Hoden von Ratte, Maus und Meerschweinchen nach Oestrogenbehandlung
Acta histochem. 26 (1967) 343

BECKER, H.
GASTEYER, K.H.
Behandlung der Lageanomalien des Hodens
Med.Klinik 14 (1969) 644

BERN, H.A.
The distribution of alkaline phosphatase in the genital tract of male mammals
Anat.Rec. 104 (1949) 361

BIERICH, J.R.
Moderne Gesichtspunkte zum Problem des Hodenhochstandes
Internist 8 (1967) 42

BLACKSHAW, A.W.
SAMISONI, J.I.
The effects of cryptorchism in the guinea pig on the isoenzymes of testicular lactat dehydrogenase
Austral.J.Biol.Sci. 19 (1966) 841

BLACKSHAW, A.W.
ELKINGTON, J.S.H.
Hormones and the isoenzymes of lactate dehydrogenase
Med.J.Australia 2 (1967) 520

BLANCO, A.
ZINKHAM, W.H.
Lactate dehydrogenase in human testis
Science 139 (1963) 601

BOCK, R. Persönl. Mitteilung 1973

BODANSKY, O. Mechanism of inhibition of phosphatase activity by glycine
J.Biol.Chem. 165 (1946) 605

BREITENECKER, G.
LUNGLMAYR, C.
GOSLAR, H.G.
GRIGORIADIS, P.
JAEGER, K.H. Zur Wirkung eines Milzdialysates auf die Genitalorgane der männlichen Ratte
Andrologie 4 (1972) 363

CHESSICK, R.D. Histochemical study of distribution of esterases
J.Histochem.Cytochem. 1 (1953) 471

CLEGG, E.J. Some effects of artificiale cryptorchidism on the accessory reproductive organs of the rat
J. Endocrinol. 20 (1960) 210

CLEGG, E.J. Further studies on artificial cryptorchidism: quantitative changes in the interstitial cells of the rat testis
J.Endocrinol. 21 (1961) 433

DAVEY, R.B.
HAMILTON, M.
Undescended testis
Med.J.Aust. 1 (1972) 472

DAVIS, B.J.
ORNSTEIN, L.
High resolution enzyme localization with a new diazo reagent, "Hexazonium pararosaniline"
J.Histochem.Cytochem. 7 (1959) 297

DEIMLING, v.O.H.
Die Darstellung phosphatfreisetzender Enzyme mittels Schwermetall-Simultan-Methoden
Histochemie 4 (1964) 48

DEMPSEY, E.W.
GREEP, R.O.
DEANE, H.W.
Changes in the distribution and concentration of alkaline phosphatase in tissues of the rat after hypophysectomy or gonadectomy, and after replacement therapy
Endocrinology 44 (1949) 88

DITTRICH, H.
SIGEL, A.
Hodentorsion
In: A. SIGEL, Lehrbuch der Kinderschirurgie
Stuttgart, Thieme 1971

EIK-NES, K.B. Secretion of testosterone by the eutopic and the cryptorchid testes in the same dog Can.J.Physiol.Pharmacol. 44 (1966) 629

FRICK, J. Zum Problem der Retentio testis Wien.Klin. Wschr. 12 (1965)213

GOMORI, G. Microtechnical demonstration of phosphatase in tissue sections Proc.Soc.exp.Biol. 42 (1939)23

GOMORI, G. The distribution of phosphatase in normal organs and tissues J.cell.comp.Physiol. 17 (1941) 71

GOMORI, G. An improved histochemical technic for acid phosphatase Stain Technol. 25 (1950) 81

GOMORI, G. Microscopic histochemistry principles and practice Univ. of Chicago Press, 1952

GOSLAR, H.G.
BAUST, P.
TONUTTI, E.
Das Verhalten einiger Dehydrogenasen im Hoden von Ratte, Meerschweinchen und Maus nach Oestrogenbehandlung
Acta histochem. 25 (1966) 198

GOSLAR, H.G.
GRIGORIADIS, P.
JAEGER, K.H.
Die Wirkung eines Milzdialysates auf das Enzymmuster des infantilen Meerschweinchen- und Rattenhodens am normalen und hypophysektomierten Tier
Arzneim. Forsch. 18 (1969)1249

GOSLAR, H.G.
BOCK, R.
Histochemische Eigenschaften der unspezifischen Esterasen im Tanycytenependym des III. Ventrikels, im Subfornicalorgan und im Subcommissuralorgan der Wistarratte
Histochemie 28 (1971) 170

GRIGORIADIS, P.
GOSLAR, H.G.
JAEGER, K.H.
Vergleichende enzymhistochemische Untersuchungen zum Verhalten des infantilen Meerschweinchenhodens nach Milzextrakt- und Gonadotropinapplikation
Verh.Anat.Ges, 63 (1969) 611

HAENSCH, R.
Fluoreszenzimmunologische Spermienautoantikörper-Befunde bei männlichen Fertilitätsstörungen
Arch. Gynaekol. 208 (1969) 91

HAENSCH, R.
Spermatozoen-Autoantikörper-Nachweis durch Immunfluoreszenz und Agglutininbestimmung bei männlichen Fertilitätsstörungen
Jahrb.d.Univ.Düsseldorf 1969/70, M. Triltsch-Verlag

HAENSCH, R.
Autoimmunpathologische Fertilitätsstörungen des Mannes
Fortschr.Med. 88 (1970) 202

HAMACHER, M.
Das histochemische Verhalten einiger Dehydrogenasen im Hoden von Ratte, Maus und Meerschweinchen nach Östrogen- und ICSH-Behandlung
Acta histochem. 30 (1968) 79

HANES, F.M.
HOOKER, C.W.
Hormone production in the undescended testis
Proc.Soc. Exptl.Biol.Med. 35 (1937) 549

HECKER, W.Ch.
Neue Gesichtspunkte zum Kryptorchismusproblem
Münch.Med. Wochenschr. 113 (1971) 1125

HECKER, W.Ch.
Neue Gesichtspunkte zum Kryptorchismusproblem
Med.Welt 23 (1972) 1476

HECKER, W.Ch.
HIENZ, H.
MENGEL, W.
Frühbehandlung des Maldescensus testis. Eine Konsequenz neuer bioptischer Untersuchungen
Dtsch.Med.Wochenschr. 97 (1972) 1325

HEDINGER, Chr.
Über den Zeitpunkt frühest erkennbarer Hodenveränderungen beim Kryptorchismus des Kleinkindes
Verh.Dtsch.Ges. Path. 55 (1971) 172

HERRE, W.
Persönl. Mitteilung 1972

HÖSLI, P.O. — Zum Kryptorchismus: Welches ist der optimale Zeitpunkt der Behandlung? Schweiz.med. Wochenschr.101 (1971) 1090

HÖSLI, P.O. — Zur Problematik der Behandlung des Kryptorchismus Act.Urol. 2 (1971) 107

HUGGINS, C. MOULTON, S.H. — Esterase of testis and other tissues J.exp.Med. 88 (1948) 169

ITO, M. — Histochemical observations of oxidative enzymes in irradiated testis and epididymis Radiation Res. 28 (1966) 266

JOHNSON, E.D. — Testicular tumors Hans Huber Publishers, Bern-Stuttgart-Vienna 1972

KEEFER, R.M. REIBER, H.G. — Interaction of ions and dipolar ions. II. The solubility of silver iodate and lead iodate in glycine and in alanine solutions J.Am.Chem.Soc. 63 (1941) 689

KOCH, H.
RAHLF, G.
MÜHLEN, v.z.A.
KÖBBERLING, J.
WENDENBURG, H.J.
Endokrinologische und morphologische Untersuchungen beim Maldescensus testis
Dtsch.med.Wschr. 100 (1975) 683

KÖPP, D.
Auftreten einiger Hydrolasen und Oxydoreduktasen in den Leydigzellen des reifenden Rattenhodens
Acta histochem. 27 (1967)117

KORMANO, M.
HÄRKÖNEN, M.
KONTINEN, E.
Effect of experimental cryptorchidism on the histochemically demonstrable dehydrogenases of the rat testis
Endocrinology 74 (1964) 44

LANGE, J.Cl.
Les cryptorchidies
Ann. Pediatr. (Paris) 13 (1966) 249

LEVY, H.
DEANE, H.W.
RUBIN, B.L.
Visualization of steroid-3ß-ol-dehydrogenase activity in tissues of intact hypophysectomized rats
Endocrinology 65 (1959) 932

LLAURADO, J.G.
DOMINGUEZ, O.V.
Effect of cryptorchidism on testicular enzymes involved in androgen biosynthesis
Endocrinology 72 (1963) 292

LOJDA, Z.
Fixation in histochemistry
Folia morph. (Warszawa) 15 (1965) 65

LUDWIG, G.
POTEMPA, J.
Der optimale Zeitpunkt der Behandlung des Kryptorchismus
Dtsch.med.Wschr. 100 (1975)680

LYNCH, jr.K.M.
SCOTT, W.W.
Lipid distribution in the Sertoli cell and Leydig cell of the rat testis as related to experimental alterations of the pituitary-gonad system
Endocrinology 49 (1951) 8

MAIER, D.M.
Species variation in testicular delta-5-3ß-hydroxysteroid activity: absence of activity in primate Leydig cells
Endocrinology 76 (1965) 463

MOORE, C.R.
QUICK, W.J.
The scrotum as a temperature regulator for the testis
Amer.J.Physiol.68 (1924) 70

MOREHEAD, J.R.
MORGAN, Ch.F.
Hormone production by experimental cryptorchid rat testes as indicated by radioautographie studies of the seminal vesicles and coagulating glands
Fertil.Steril. 18 (1967) 232

NACHLAS, M.M.
SELIGMAN, A.M.
Histochemical demonstration of esterase
J.Nat.Cancer Inst. 9 (1949)415

NACHLAS, M.M.
SELIGMAN, A.M.
The comparative distribution of esterase in the tissues of five mammals by a histochemical technique
Anat.Rec. 105 (1949) 677

NELSON, W.O.
Mammalian spermatogenesis: Effect of experimental cryptorchidism in the rat and nondescent of the testis in man
Recent Progr. Hormone Res. 6 (1951) 29

NELSON, W.O.
Some problems of testicular function
J. Urol.69 (1953) 325

NIEMI, M.
HÄRKÖNEN, M.
KOKKO, A.

Localization and identification of testicular esterases in the rat
J.Histochem.Cytochem. 10 (1962) 186

NIEMI, M.
IKONEN, M.

Hypophysectomy and testis dehydrogenases
Endocrinology 70 (1962) 167

NIEMI, M.
KORMANO, M.

Cyclical changes in and significance of lipids and acid phosphatase activity in the seminiferous tubules of the rat testis
Anat.Record. 151 (1965) 159

NIEMI, M.
KORMANO, M.

Histochemical demonstration of a c-esterase activity in the seminiferous tubules of the rat testis
J.Reprod.Fertility 10 (1965)49

NIEMI, M.
HÄRKÖNEN, M.
IKONEN, M.

A chemical and histochemical study of the significance of the non-specific esterase activity in the adult rat testis
Endocrinology 79 (1966) 294

NIERMANN, H. Die Hodenretention aus der Sicht des Andrologen Endokrinologischer Arbeitstag, Münster 1972

PADYKULA, H.A.
HERMAN, E. Factors affecting the activity of adenosine triphosphatase and other phosphatases as measured by histochemical techniques J.Histochem.Cytochem. 3 (1955) 161

PEARSE, A.G. Histochemistry-Theoretical and Applied, Vol. I, J. & A. Churchill Ltd., London 1968

PEARSE, A.G. Histochemistry-Theoretical and Applied, Vol. II, Churchill Livingstone, Edinburgh and London 1972

POSALAKY, Z.
SZABO, D.
BACSI, E.
ÖKRÖS, I. Hydrolytic enzymes during spermatogenesis in rat. An electron microscop and histochemical study J.Histochem.Cytochem.16 (1968) 249

RABOCH, W.
Verpaßte Chance für Kryptorchiker
Sexualmedizin 2 (1973) 420

RAPOPORT, S.M.
Medizinische Biochemie
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1966

REISS, J.
Grundlagen und neuere Ergebnisse des histochemischen Nachweises von Dehydrogenasen mit Tetrazoliumsalzen
Z.wiss.Mikrosk. 68 (1967) 169

ROSA, C.G.
VELARDO, J.T.
Histochemical demonstration of succinic dehydrogenase activity in tissue sections by a modified technique
J.Histochem.Cytochem. 2 (1954) 110

ROSA, C.G.
TSOU, K-Ch.
Use of tetrazolium compounds in oxidative enzyme histo- and cytochemistry
Nature (London) 192 (1961) 990

RUDOLPH, G.
Die Enzymhistochemie der DPN-Diaphorase, der TPN-Diaphorase und der Succinodehydrogenase
Acta histochem. 10 (1960) 293

RÜMKE, Ph.
HELLINGA, G.
Autoantibodies against spermatozoa in steril men
Am.J.clin.Pathol. 32 (1959)357

SAKATOKU, J.
MIURA, T.
Acta Sch.Med. Univ.Kioto 34 (1957) 195
Zit. nach KORMANO et al. 1964

SCHOYSMAN, R.
The secondary male sterility
Andrologie 2 (1970) 71

SCORER, C.G.
The incidence of incomplete descent of the testicle
Arch.Dis.Childh. 31 (1956)198

SHIRAI, M.
MATSUSHITA, S.
KAGAYAMA, M.
ICHIJO, S.
TAKEUCHI, M.
Histological changes of the scrotal testis in unilateral cryptorchidism
Tohoku J.exp.Med. 90 (1966)363

STÄDTLER, F.
HARTMANN, R.
Histologische und morphometrische Untersuchungen zum praepuberalen Hodenwachstum bei normal entwickelten und zerebral geschädigten Knaben
Dtsch.med.Wschr. 97 (1972)104

STUTTE, H.J.
Hexazotiertes Triamino-Tritolyl-Methanchlorid (Neufuchsin) als Kupplungssalz in der Fermenthistochemie
Histochemie 8 (1967) 327

SWOBODA, W.
Diagnose und Therapie der Deszensusstörungen des Hodens
Pädiat.prax. 9 (1970) 215

TEPPERMAN, J.
TEPPERMAN, H.M.
DICK, H.J.
A study of the metabolism of the rat testis in vitro
Endocrinology 45 (1949) 491

TURPEINEN, P.
TURPEINEN, O.
TALANTI, S.
Effect of local heat in vivo on hyaluronidase, succinic dehydrogenase and phosphatase on the rat testis
Endocrinology 70 (1962) 731

VAHLENSIECK, W. "Akuter Hoden" unter besonderer Berücksichtigung der Hodentorsion
Landarzt 35 (1959) 124

WACHSTEIN, M.
MEISEL, E. On the histochemical demonstration of Glucose-6-Phosphatase
J.Histochem.Cytochem. 4 (1956) 592

WAITES, G.M.H.
ORTAVANT, R. Effect précoces d`une brève élévation de la temperature testiculaire sur la spermatogenèse du Bélier
Ann.Bio.Animal, Biochim.Biophys. 8 (1968) 323

WALSH, P.C.
SWERDLOFF, R.S. Experimental cryptorchism: Effect on serum LH and FSH in the rat
Urological Res. 1 (1973) 22

WALZ, U.M. Prognose und Therapie der Lageanomalien des Hodens
Med. Welt 22 (1971) 81

WATTENBERG, L.W. Microscopic histochemical demonstration of steroid-3ß-oldehydrogenase in tissues sections
J.Histochem.Cytochem. 6 (1958) 225

WILLIAMS, W.L.
CUNNINGHAM, B. Histologic changes in the rat testis following heat treatment
Yale J.Biol.Med. 12 (1940)309

YOUNG, W.C. The influence of high temperature of the guinea pig testis. Histological changes and effects on reproduction
J.Exptl.Zool. 49 (1927) 459

Herrn Priv. Doz. Dr. med. L. WEISSBACH, Urologische Klinik der Universität Bonn, danke ich für die liebenswürdige Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung dieser Dissertation.

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. R. BOCK, Dir. des I. Anatomischen Institutes der Universität des Saarlandes, Homburg, für vielfältigste Anregung und Beratung während der Durchführung der enzymhistochemischen Experimente und die verständnisvolle Zurverfügungstellung seines damaligen Labors im Anatomischen Institut der Universität Bonn.

Ein besonderer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. med. H. G. GOSLAR, Lehrstuhl II, des Anatomischen Institutes der Universität Düsseldorf, der mir bei der Auswertung der Präparate seine Erfahrung auf dem Gebiet der Enzymhistochemie des Hodens kooperativ zur Verfügung stellte.

LEBENSLAUF

Am 27. Februar 1943 wurde ich, Christel Sauer, als zweites Kind des Revierförsters Rudolf Sauer und seiner Ehefrau Franziska, geb. Faas, in Saarburg / Trier geboren.

Verlauf meines Bildungsweges:

Einschulung in die Volksschule Saarburg:1950
Reifeprüfung am Staatl.Aufbaugymnasium/FOS Wittlich: 1964
Erstes Staatsexamen für das Lehramt an Volksschulen, Päd. Hochschule Rheinland - Abt. Bonn -: WS 1966/67
Medizinisches Staatsexamen, Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn: WS 1974

Med. Ass. - Zeit:

1.	Innere Medizin:	Prof Dr.med. H.J. Dengler, Med. Universitätsklinik Bonn, Juli - Oktober 1975
2.	Chirurgie:	Prof.Dr.med. A. Gütgemann, Chirurg. Universitätsklinik Bonn, November 1975 - Juni 1976